

La nutrition bactérienne

Croissance nécessite des besoins nutritionnels et des énergétiques.

Nutriments seront utilisés pour :

1. **Anabolismes** constituants cellulaires (mb, paroi, ...) et fonctionnels (enzy et coenzy.)
2. **Catabolismes** En chimique (ATP) et métabolites intermédiaires.

Pour vivre et se multiplier

Besoins élémentaires (éléments nutritifs de base)

Milieu minimum :

- Eau,
- Source d'énergie,
- Source de carbone,
- Source d'azote,
- Eléments minéraux.

par ailleurs, l'apport de nutriments
supplémentaires est nécessaire pour certains
micro-organismes (=types trophique)

I. La source d'énergie

✓ *Les phototrophes ou photosynthétiques*

Energie à partir des rayons lumineux : espèces photosynthétiques
synthèse d'ATP à partir de l'ADP et du Pi

🌿 Organes photosynthétiques = **chromatophores**;

🌿 Pigments = bactériochlorophylles;

🌿 Donneurs d'électrons minéral ou organiques (**sans libération d'O₂**).

chez les végétaux, le donneur est H₂O (**avec libération d'O₂**)

✓ *Les chimiototrophes ou chimiosynthétiques*

Source d'Energie oxydation de composés organiques ou minéraux.

II. La source d'azote

Nécessaire à la photosynthèse des protéines (10 % du poids sec).

L'azote peut être d'origine :

✓ *Minérale :*

- NH_4^+ et NO_3^- utilisés par la plupart des bactéries;
- NO_3^- utilisé par les bactéries du genre *Nitrobacter*;
- N_2 utilisé par les bactéries fixatrices d'azote libres (*Azotobacter*) ou symbiotiques (*Rhizobium*).

✓ *organiques*

Protéines, acides aminés (R-NH_2)

A partir de ces composés, il y a incorporation des NH_4^+ libérés après désamination ou utilisation du radical NH_2 par transamination.

III. Le soufre et le phosphate

Le soufre se trouve dans les protéines, au niveau des groupement thiols (-SH) des a.a. soufrés (cystine et cystéine).

Le phosphore incorporé sous la forme de phosphate inorganique.

fait partie des acides nucléiques, de certains coenzymes et de l'ATP.

IV. Autres éléments minéraux

✓ *Macro-éléments :*

■ Na, K, Mg, Cl : rôle dans l'équilibre physicochimique.

■ Fe pour les Cytochromes;

■ Mg pour la chlorophylle.

✓ *Micro-éléments :*

Co, Cu, Mn, et autres cofacteurs ou activateurs d'enzymes.

TYPES TROPHIQUES

Trois types trophiques en fonction :

1. *Source d'énergie* utilisée

(phototrophie/chimiotrophie) et la nature du donneur d'électrons (lithotrophie / organotrophie);

2. *Accepteur final d'électrons* (respiration aérobie ou anaérobie / fermentation);

3. Source de carbone (autotrophie / hétérotrophie).

1. Source d'énergie

1.1 Phototrophe

Source d'énergie (ATP) = lumière.

- Exemple bactériochlorophylle (chlorophylle);
- carotènes.

1. Source d'énergie

1.2 Chimiotrophe

Chimiotrophe : source d'énergie = oxydation de substrats réduits ;

Chimiolithotrophe : substrat minérale
(*Thiobacillus* : H_2S , S (sulfure) / *Nitrosomonas* (NH_2^+ , NO_2^-)).

Chimiorganotrophe : substrat organique, les + nombreux correspond souvent à une deshydrogénation : glucide, aa, A.G.

1. Source d'énergie

1.3 Source d'hydrogène et d'électrons

- ☛ *Lithotrophe* : molécules inorganiques (chimiques) réduites ;
- ☛ *Organotrophe* : molécules organiques réduites.

2. Accepteur final d'électrons

2.1 Respiration aérobie

L'accepteur final d'électrons est l' O_2 , ou des ions de CO_3^{2+} , SO_4^{2-} .

2. Accepteur final d'électrons
2.2 Respiration anaérobie

L'accepteur final d'électrons est une molécule minérale (Fe, ...).

2. Accepteur final d'électrons

2.3 Fermentation

L'accepteur final d'électrons est une molécule organique qui est réduite (acide, alcools, ...).

3. Source de carbone

3.1 Autototrophe

- source de carbone = CO_2 ;

3. Source de carbone

3.2 Hétérotrophe

- **source de carbone** = molécules organiques réduites (sucres, acides organiques, alcools) (exemple *Pseudomonas methanica* (CH_4)).
 - ☛ **Prototrophe** : bactérie Hétérotrophe qui à partir d'une même molécule organique faire toutes ces réactions de biosynthèse moléculaire.

3. Source de carbone

3.3 Auxototrophe

- perte de la capacité de synthèse d'un nutriment (**facteurs de croissance**) (acide aminé, purine, pyrimidine et vitamine) essentiel au développement (= coenzymes ou leurs précurseurs)(ex : Vit B2 = riboflavine déshydrogénation (NAD^+/FAD); Thiamine (décarboxylation); biotine (carboxylation)).

Synthèse : Source de carbone et d'énergie

- Certains substrats peuvent être à la fois source de carbone et d'énergie.
- Dans 1 milieu de culture, on a souvent les 2.
 - Intérêt : identification.

Chapitre I : Culture des bactéries

- Culture se fait soit sur milieu liquide ou milieu solide.
- L'isolement et l'identification bactérienne se fait sur milieux gélosés contenant les substances indispensables à la croissance.

- I.1.1 – Milieux d'isolement et d'identification
- **Gélose nutritive (GN)** est la plus répandue (bouillon nutritif + 12 à 15 g/L d'agar).
- **Agar** extraite de certaines algues brunes et fixe jusqu'à 300 fois son poids en eau.
 - Polyholoside mixte de D- et L-galactose estérifié par de l'a. sulfurique.
 - Soluble à 100°C et reste en surfusion à 45°C puis se solidifie (gélifie).
- Chaque cellule disséminées à la surface de GN donne une colonie.
 - 1 colonie isolée donne une culture pure et constitue le point de départ d'une étude systématique à l'origine de l'identification.

l'identification permettent la recherche la présence ou l'absence d'un caractère particulier :

- Fermentation d'un sucre;
- Production de gaz (H_2S);
- Formation de composés particuliers (l'indole, l'acétoïne, ...);
- Présence d'une enzyme (décarboxylase, désaminase, gélatinase, β -galactosidase, nitrate réductase, ...);
- Mobilité (mannitol mobilité nitrate).

- I.1.2- Milieux sélectifs ou d'enrichissement
- Favorisent la croissance d'une espèce aux dépens des autres grâce à des inhibiteurs chimiques qui bloquent les autres groupes :
 - BEA (streptocoques fécaux) : azide de sodium qui inhibe les Gram⁻ ;
 - CHAPMAN (staphylocoques) : 75 g / L de NaCl;
 - HEKTOEN (entérobactéries) : sels biliaires inhibe les Gram⁺ et *E. c.*;
 - Milieu au SELENITE DE SODIUM : inhibe les bactéries Gram⁺

I.1.3- Milieux synthétiques

- Leur composition est connue et dépend des exigences nutritionnelles des souches cultivées (auxotrophies).
 - Cas de *Haemophilus influenza* : contient 32 composants (AA, vitamine, sels minéraux, bases puriques, ...)
- Permettent d'étudier les besoins nutritionnels d'une bactérie.

I.1.4- Milieux empiriques

- Leur composition n'est pas connue avec précision :
 - Exemple : Peptone issu d'une digestion chimique ou enzymatique des matières protéiques telles que la viande, la caséine et la gélatine.
- Selon le type de dégradation : polypeptides, des oligopeptides et des a.a.
 - Peptone pepsique (pepsine).
 - Peptone trypsique (= tryptone)(ss action du suc pancréatique).
 - Extrait de viande (infusion de viande de bœuf).
 - Extrait de levure (digestion enzymatique).

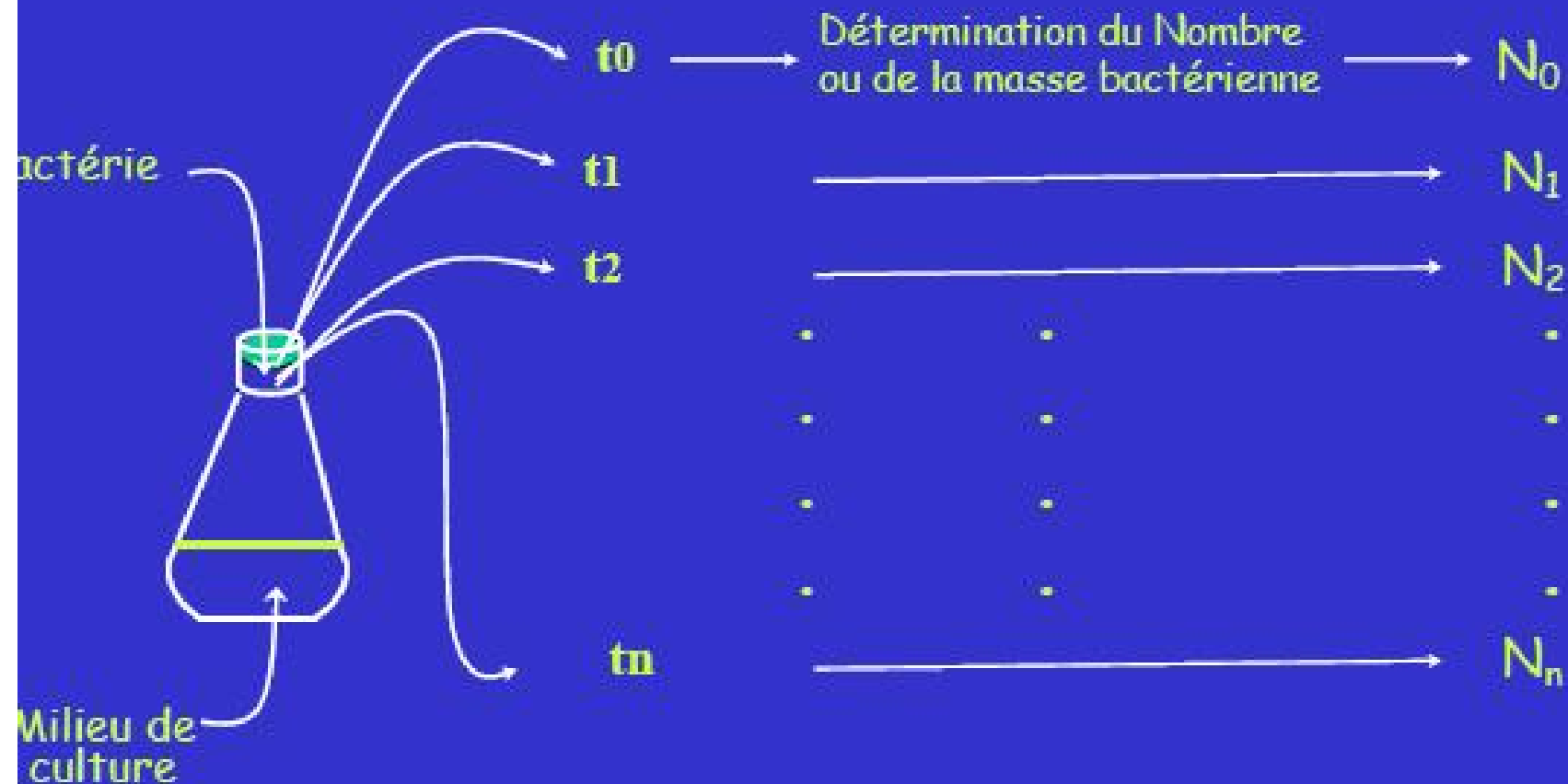
La croissance bactérienne

I. Définition

- Généralement c'est l'accroissement de tous les composants d'un organisme.
- Chez les organismes pluricellulaires, il y a augmentation de la taille.
- Chez les bactéries augmentation du nombre de cellules.
- Cet accroissement est donc synonymes d'une multiplication bactérienne.
- Chez *Escherichia coli*, toutes les 20 min environ, 1 bactérie donne naissance à 2 bactéries identiques.

② Méthodes de mesure de la croissance

1- Principe



N.B. Durant la croissance la $T^{\circ}C$ et l'aération doivent être respectées

II.1 Mesure du nombre de cellules (TD)

Nombre de cellules totales

- Cellule de THOMAS
- Dispositif électronique (Compteur Coulter)

Nombre de cellules viables

- Sur milieu solide
- Sur milieu liquide

II.2 Mesure de la masse

 Mesure du poids sec (P frais d'1 bactérie = $1,5 \cdot 10^{-12}g$).

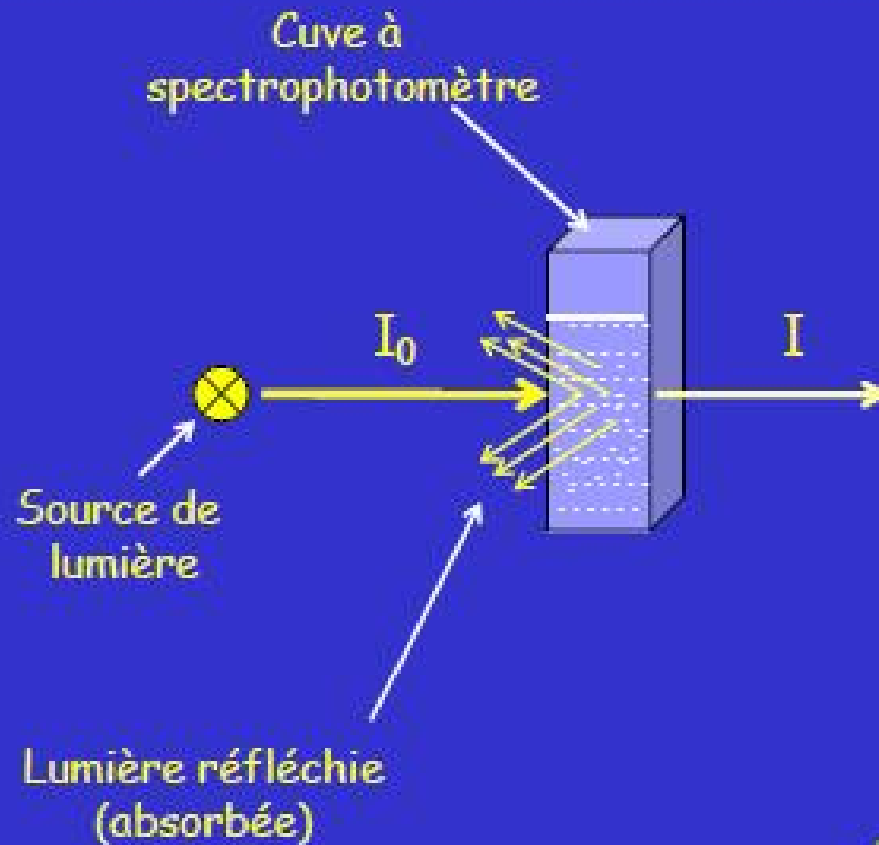
 Dosage de l'azote total (14 % du poids sec).

 La turbidimétrie consiste à mesurer le trouble bactérien.

La turbidimétrie

Une suspension cellulaire, traversée par un rayon lumineux, disperse la lumière (absorbe) et la quantité transmise est réduite par rapport à la quantité émise.

Ceci est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre.



$$\Rightarrow I < I_0$$

Toute suspension bactérienne obéit à la **Loi de Beer Lambert** :

$$D.O = \log I_0 / I = \Sigma l C = K C$$

Σ = constante d'absorbance

l = distance traversée par le rayon (1 cm)

Σ et l sont constantes, donc **DO** proportionnelle à **C**

La longueur d'onde utilisée pour la suspension bactérienne est comprise entre 550 et 660 nm (**spectre d'absorbance**).

III. Les paramètres de la croissance

- La croissance d'une bactérie est définie par 2 constantes :

- Le temps de génération (en heure)

c'est le temps qui sépare 2 divisions successives (= temps nécessaire au dédoublement de la population).

$$g = t / n$$

- t : temps de croissance (connu) et n = nombre de divisions.
- Le taux de division (v) (*appelé avant taux de croissance (μ)*), en h^{-1} .
c'est le nombre de division par unité de temps.

$$v = \mu = n / t \text{ donc } v = 1 / g$$

- v est exprimé en nombre de division / unité de temps
- Ex. Chez *Escherichia coli*. $v = 3 \text{ div. / h.}$

④ Expression mathématique de la croissance

Temps

nombre de Bactéries

$$\begin{array}{lll}
 t_0 & \longrightarrow & N_0 = 1N_0 \longrightarrow 2^0 N_0 \\
 t_1 & \longrightarrow & N_1 = 2N_0 \longrightarrow 2^1 N_0 \\
 t_2 & \longrightarrow & N_2 = 2 \times 2 \times N_0 \longrightarrow 2^2 N_0 \\
 t_3 & \longrightarrow & N_3 = 2 \times 2 \times 2 \times N_0 \longrightarrow 2^3 N_0 \\
 t_4 & \longrightarrow & N_4 = 2 \times 2 \times 2 \times 2 \times N_0 \longrightarrow 2^4 N_0 \\
 \vdots & & \\
 \vdots & & \\
 \vdots & & \\
 t_n & \longrightarrow & N_n = \underbrace{2 \times 2 \times 2 \times 2 \times \dots}_{n \text{ fois}} N_0 \longrightarrow 2^n N_0
 \end{array}$$

(n = nombre divisions et N_0 = nombre de bactéries à t_0)

$$N = 2^n N_0 \text{ (avec } v = n/t \text{ et } n = vt) \text{ donc } N = 2^{vt} N_0$$

V. Représentation graphique de la courbe de croissance

La croissance bactérienne est représentée par un graphique :

$$N = f(t) \text{ ou } DO = f(t), \dots$$

V.1 Représentation arithmétique $N = f(t)$

A t_0 correspond N_0 (ordre 10^5 à 10^6),

A t_1 correspond $N_1 = 2 N_0$ ($2 \cdot 10^5$ à $2 \cdot 10^6$) avec $t_1 - t_0 = g$,

A t_2 correspond $N_2 = 4 N_0$ ($4 \cdot 10^5$ à $4 \cdot 10^6$) avec $t_2 - t_1 = g$,

Sur le graphique : l'échelle pose **Problème ?**

car la progression de nombre de cellules suit une échelle logarithmique.

V.2 Représentation logarithmétique $\text{Log}(N) = f(t)$

La croissance bactérienne est représentée par un graphique :

$$N = 2^n N_0 \text{ (avec } v (= \mu) = n/t \text{ et } n = vt) \text{ donc } N = 2^{vt} N_0$$

$$\text{Log } N = \text{Log } 2^n N_0 \quad \xrightarrow{(n = vt)} \quad \text{Log } N = 2^{vt} N_0$$

$$\text{Log } N = \text{Log } 2^n + \text{Log } N_0 \quad \longrightarrow \quad \text{Log } N = vt \text{ Log } 2 + \text{Log } N_0$$

v , $\text{Log } 2$ et $\text{Log } N_0$ sont des constantes

donc l'équation d'une droite $y = ax + b$

Pente de la droite (= **vitesse spécifique** = k)

(pente de la droite) $a = k = v \text{ Log } 2$

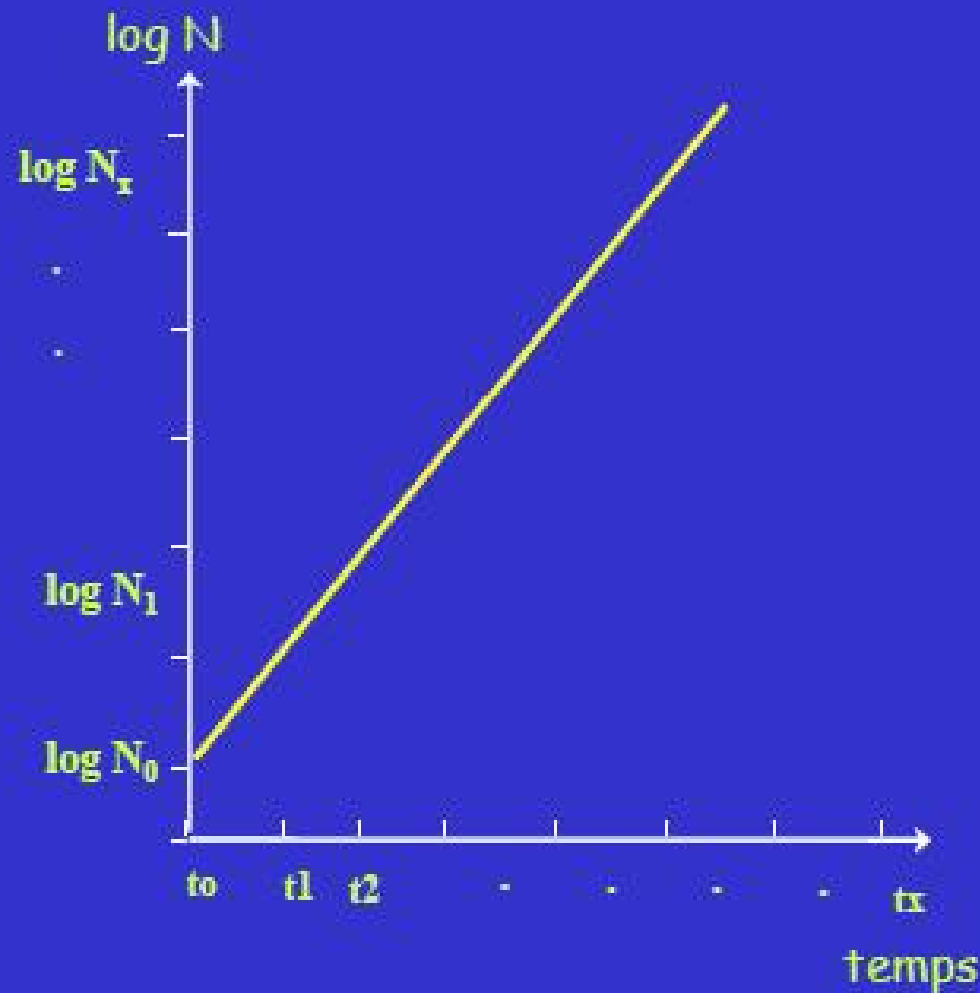
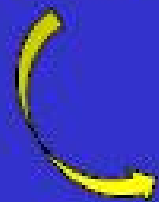
$v = \text{Pente} / \text{Log } 2$

$$v = \frac{\text{Log } N - \text{Log } N_0}{t \text{ Log } 2}$$

☞ Représentation logarithmique

Courbe: $\log N = f(\text{temps})$

Echelle
logarithmique

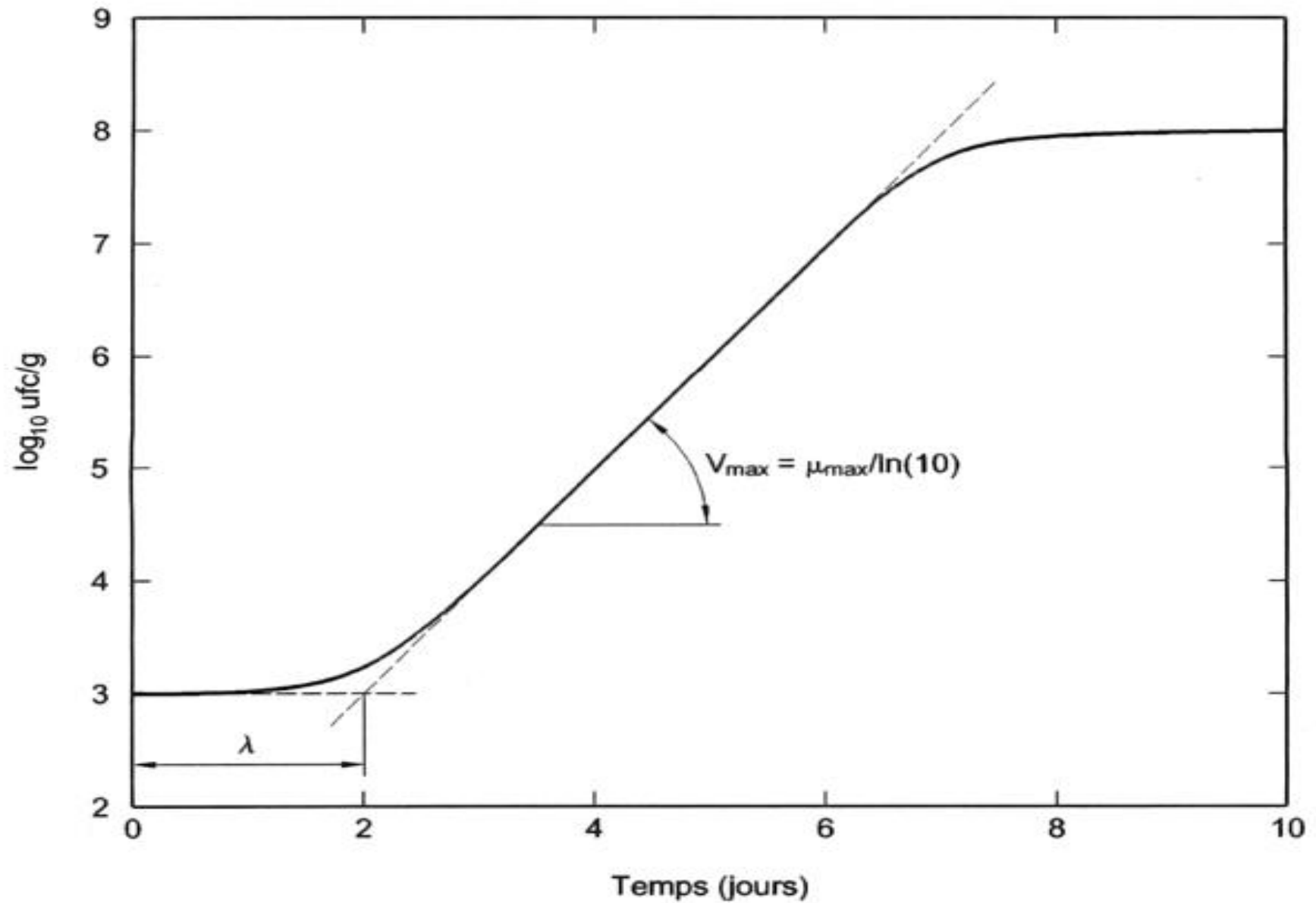


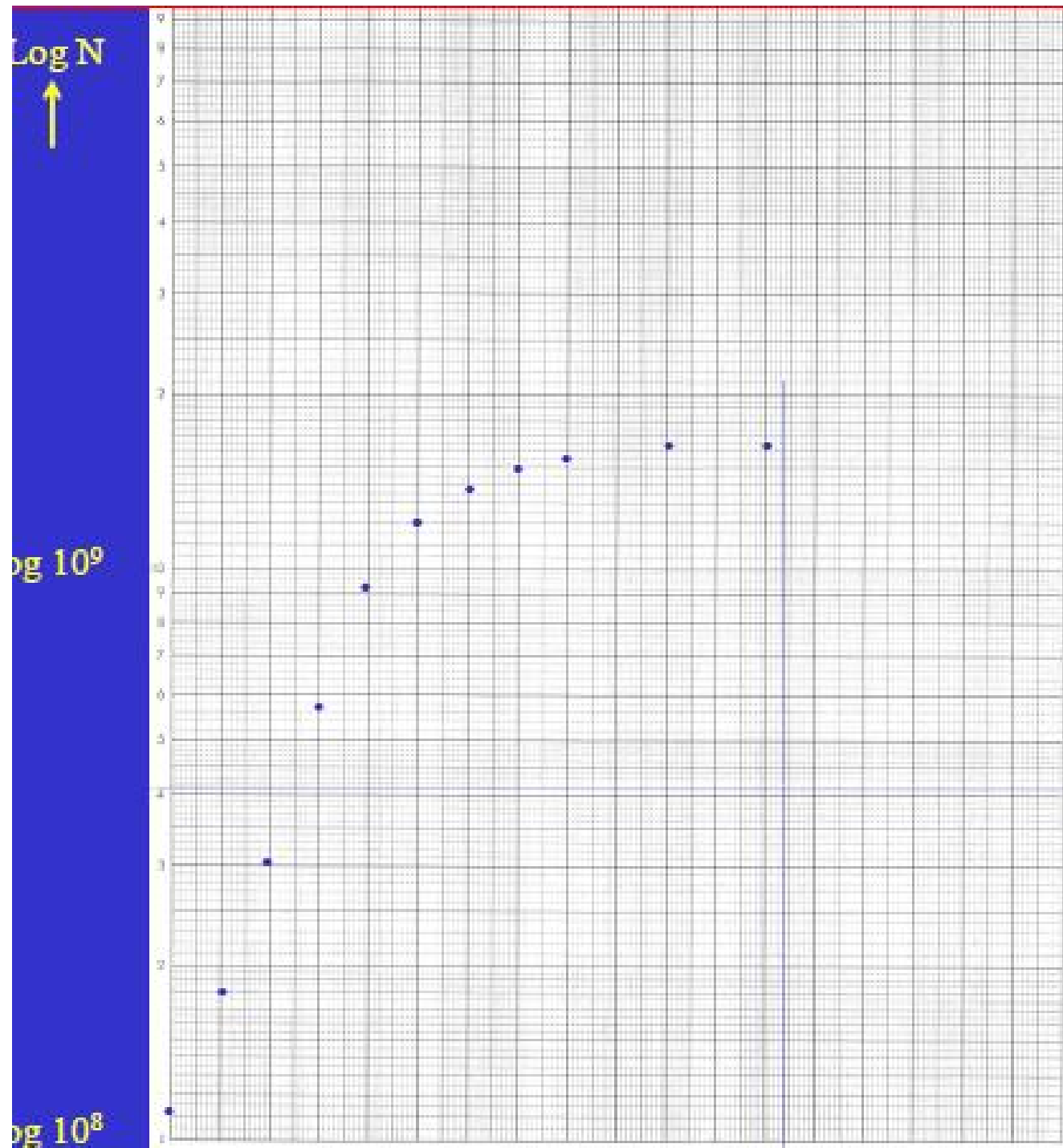
Echelle
arithmétique



⊗ Tracer la courbe sur un papier semi-logarithmique

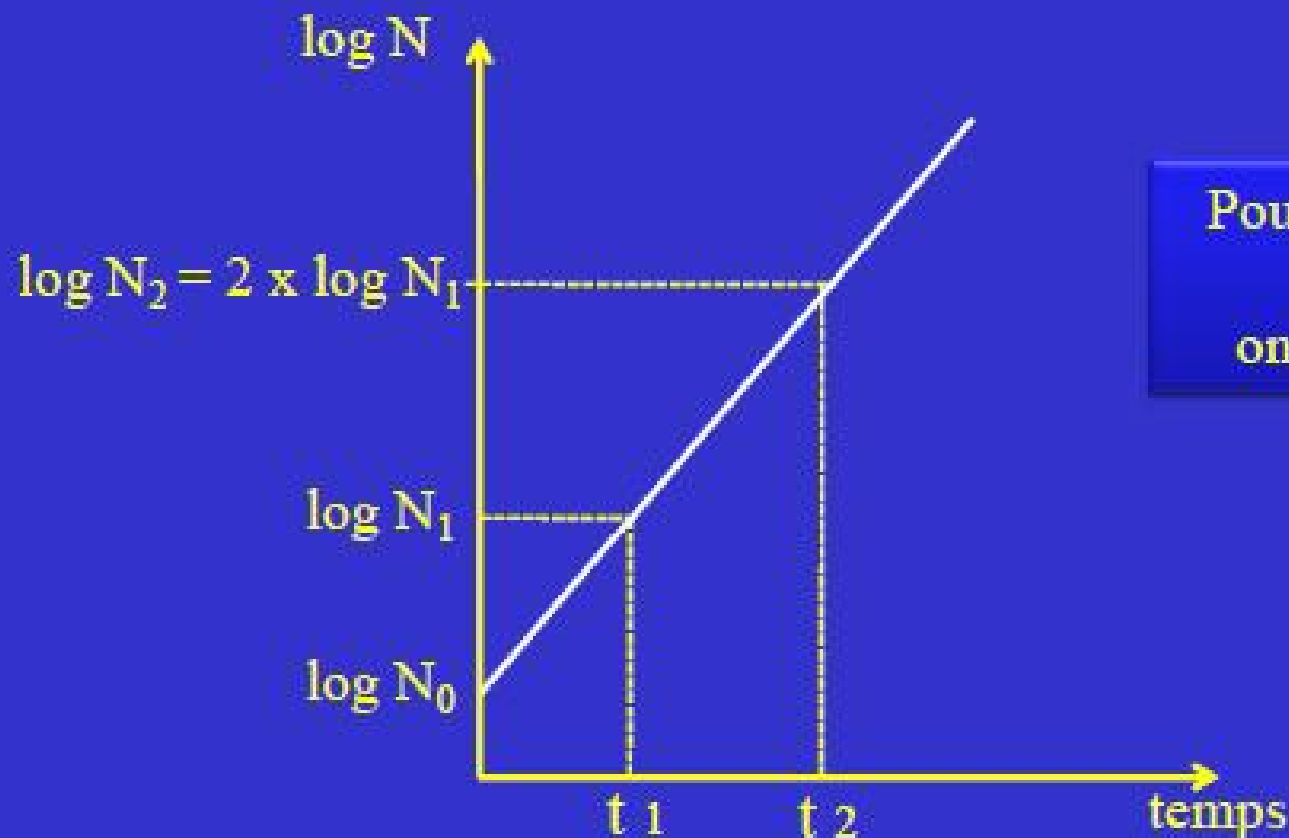
V.2 Représentation logarithmique $\text{Log}(N) = f(t)$





Temps en heure (H)	Nombre bactérien (mL)
0	$1,1 \cdot 10^8$
5	$1,8 \cdot 10^8$
10	$3,1 \cdot 10^8$
15	$5,4 \cdot 10^8$
20	$9,2 \cdot 10^8$
25	$1,2 \cdot 10^9$
30	$1,4 \cdot 10^9$
35	$1,55 \cdot 10^9$
40	$1,6 \cdot 10^9$
50	$1,65 \cdot 10^9$
60	$1,65 \cdot 10^9$

⑥ Détermination théorique des paramètres



Pour g prendre $N_2 = 2 N_1$
on a alors $g = t_2 - t_1$

Pour calculer v $v = \frac{\log N_2 - \log N_1}{(t_2 - t_1) \log 2}$

Ou

$v = 1/g$

Eviter de prendre en considération le N_0

La croissance n'est pas toujours exponentielle

Justification :

E. coli, à 37°C, μ est de 20 min

$$\mu = 1 / g = 1 / 20 = 0,05 \text{ div / min} = 3 \text{ div / heure.}$$

Après 48 h de croissance exponentielle et si à t_0 , on a une seule bactérie ($N_0 = 1$) :

$$\text{Log } N = \mu t \text{ Log } 2 + \text{Log } N_0 \quad \text{Log } N = 3 \times 48 \times 0,301 = 43,344$$

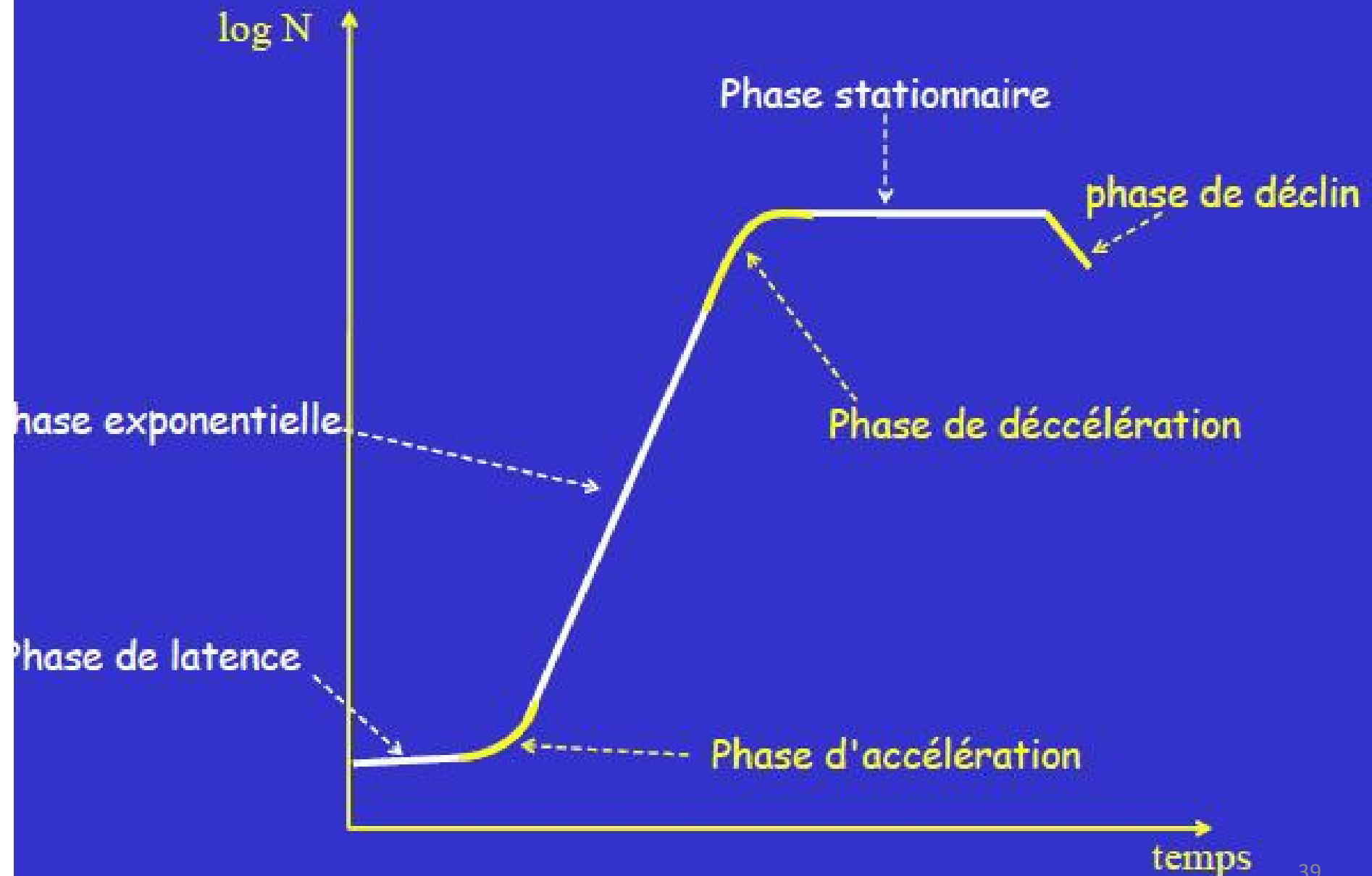
Le nombre de bactéries est : $N = 2,2 \cdot 10^{43}$ bactéries.

Le poids d'une bactérie $1,5 \cdot 10^{-12}$ g.

La masse bactérienne = $3,3 \cdot 10^{31}$ g soit $3,3 \cdot 10^{25}$ tonnes.

(poids de la terre = $5 \cdot 10^{21}$ tonnes).

⑦ Les phases de croissance



VII.1 La phase de latence

✓ Pas de croissance, $N_0 = \text{constant}$ et de $\nu = 0$

Causes :

- L'âge des bactéries,
- Composition du milieu de culture
(à l'adaptation de la bactérie,)

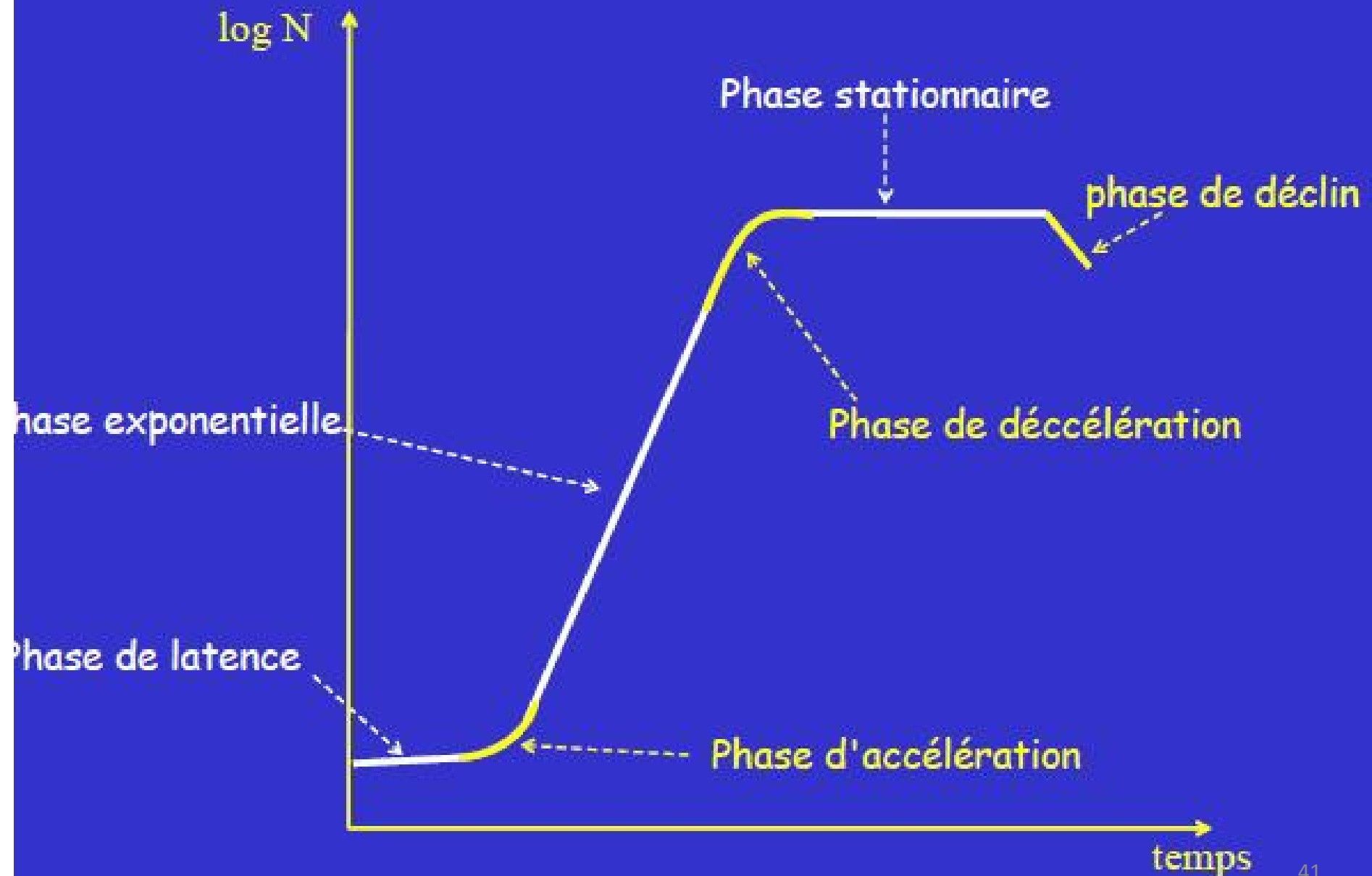
VII.2 La phase d'accélération

✓ Début de croissance, le nombre bactérien augmente $\nu > 0$

Causes :

- Bactérie adaptée au milieu.

⑦ Les phases de croissance



VII.3 La phase exponentielle

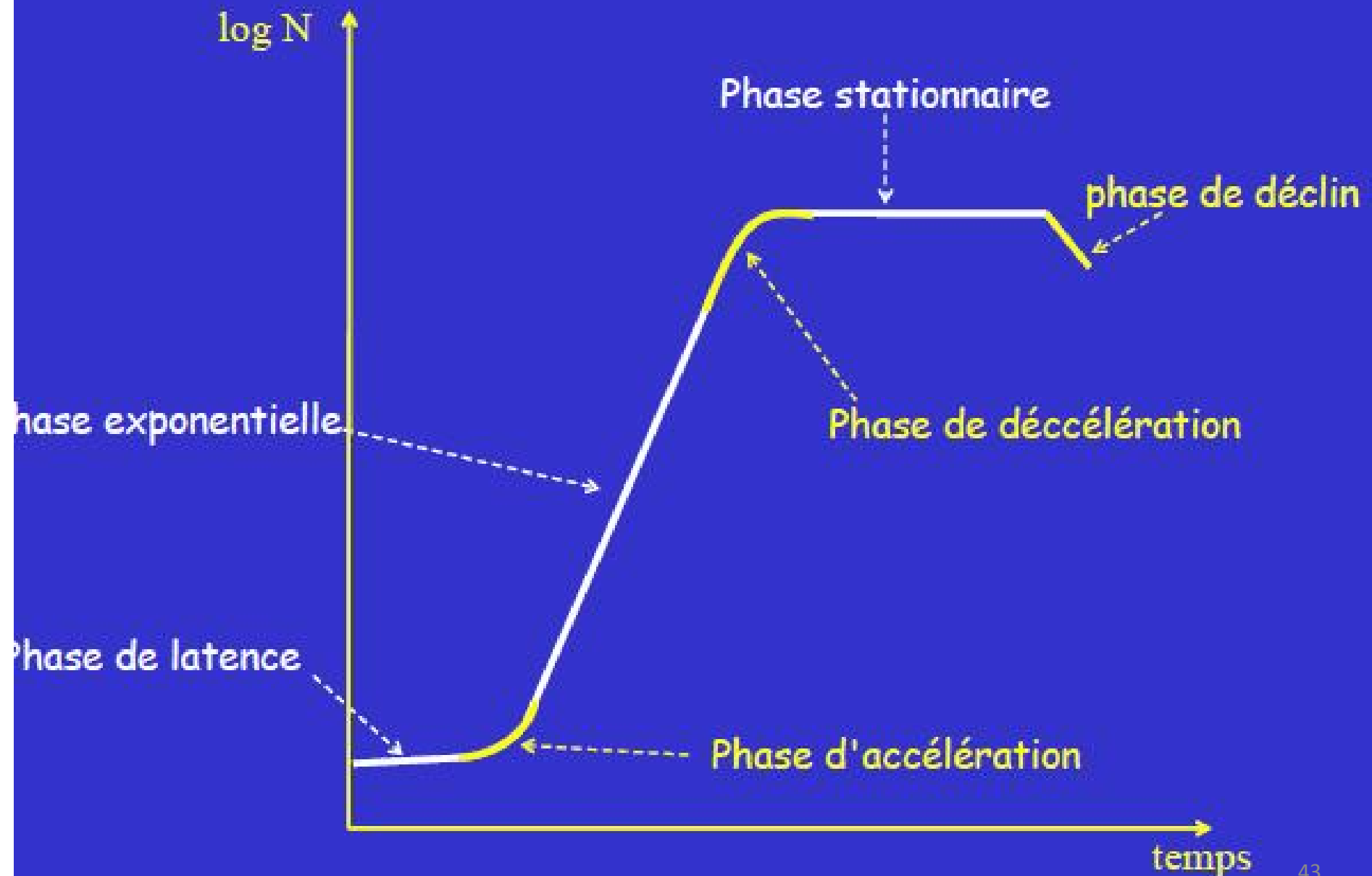
- ✓ C'est la phase physiologique idéale pour la croissance
- ✓ Le temps de génération g est minimal
- ✓ Le taux de division $\nu > 0$ maximal et constant
- ✓ Sur papier semi-logarithmique : phase exponentielle = droite
(relation proportionnelle entre le $\log N$ et le temps).

$$\text{Log } N = \nu t + \text{Log } N_0$$

(équation d'une droite $ax + b$)

- ✓ La phase exponentielle dure généralement quelques heures.

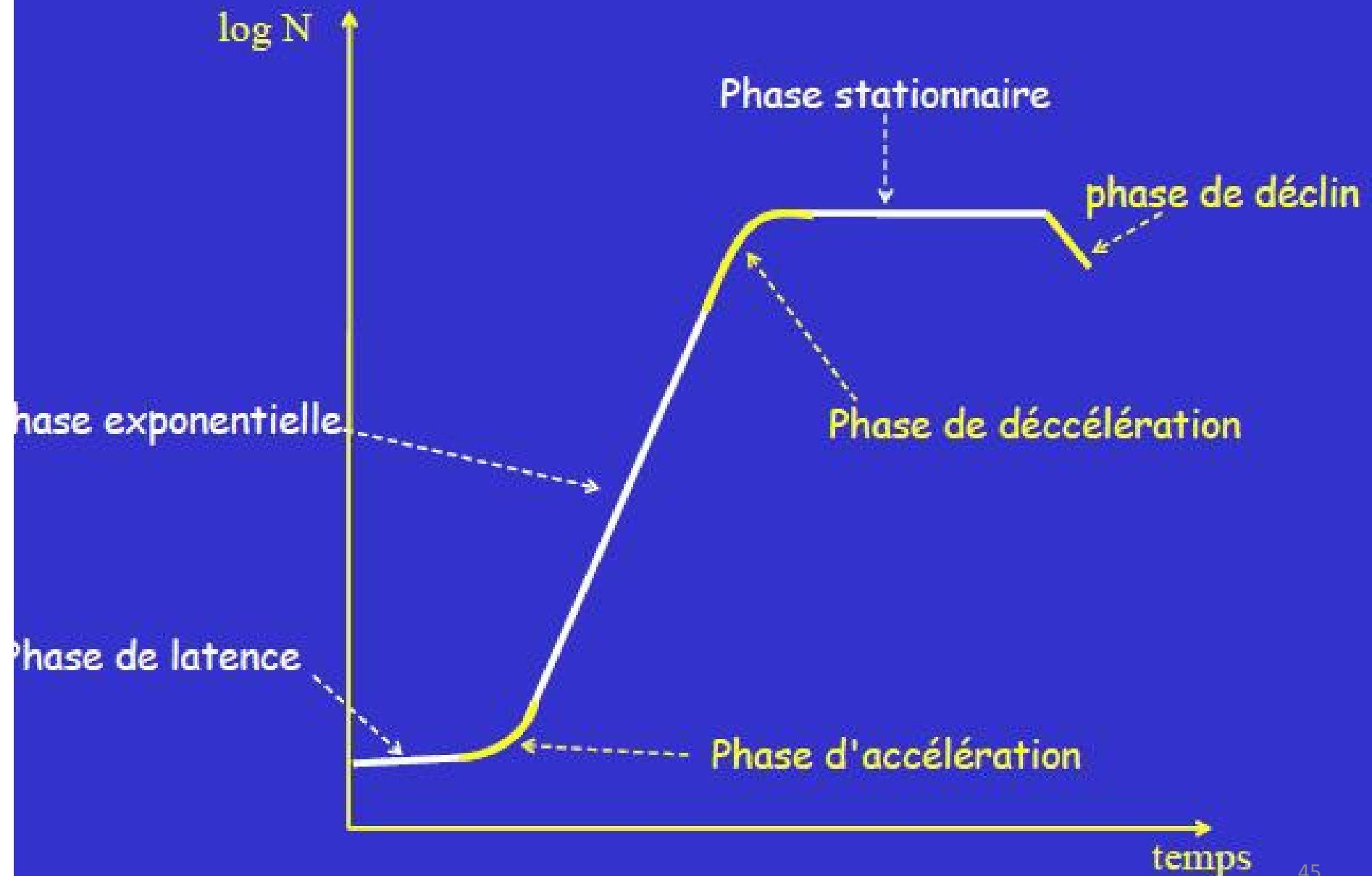
⑦ Les phases de croissance



VII.4 La phase de ralentissement

- ✓ Taux de division ν diminue;
- ✓ L'augmentation de N dans le temps est plus faible durant la fin de la phase exponentielle.
- ✓ Le milieu devient moins favorable à la croissance.

⑦ Les phases de croissance



VII.5 La phase stationnaire

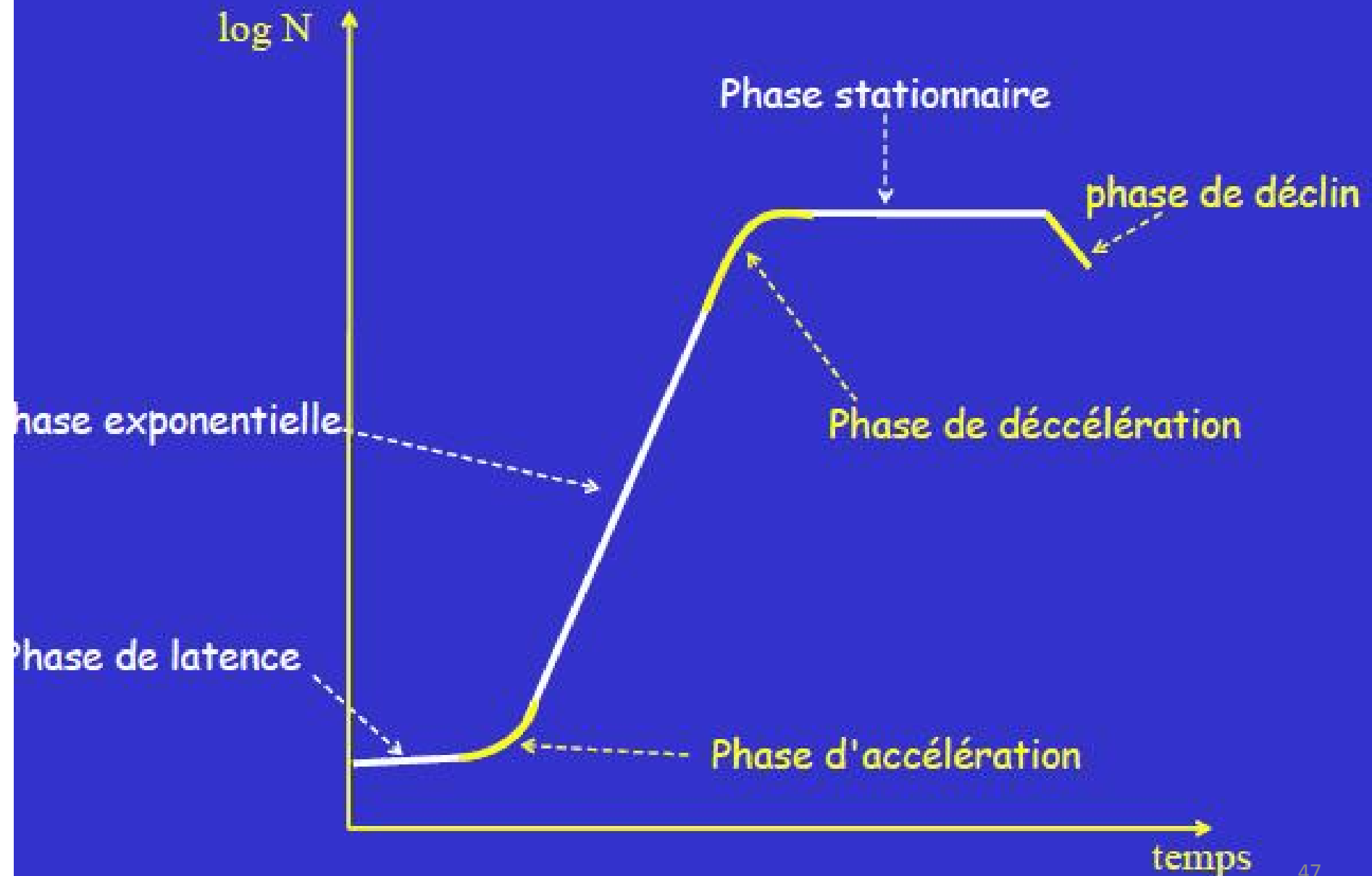
- ✓ Il n'y a plus de croissance : $\nu = 0$
- ✓ Nombre de cellules viable est constant :

Equilibre entre cellules qui meurent et celles qui apparaissent ou même nombre de cellules viables sans division ni disparition.

Causes :

- l'épuisement du milieu de culture,
- l'accumulation de métabolites toxiques,
- l'évolution défavorables des conditions physico-chimiques.

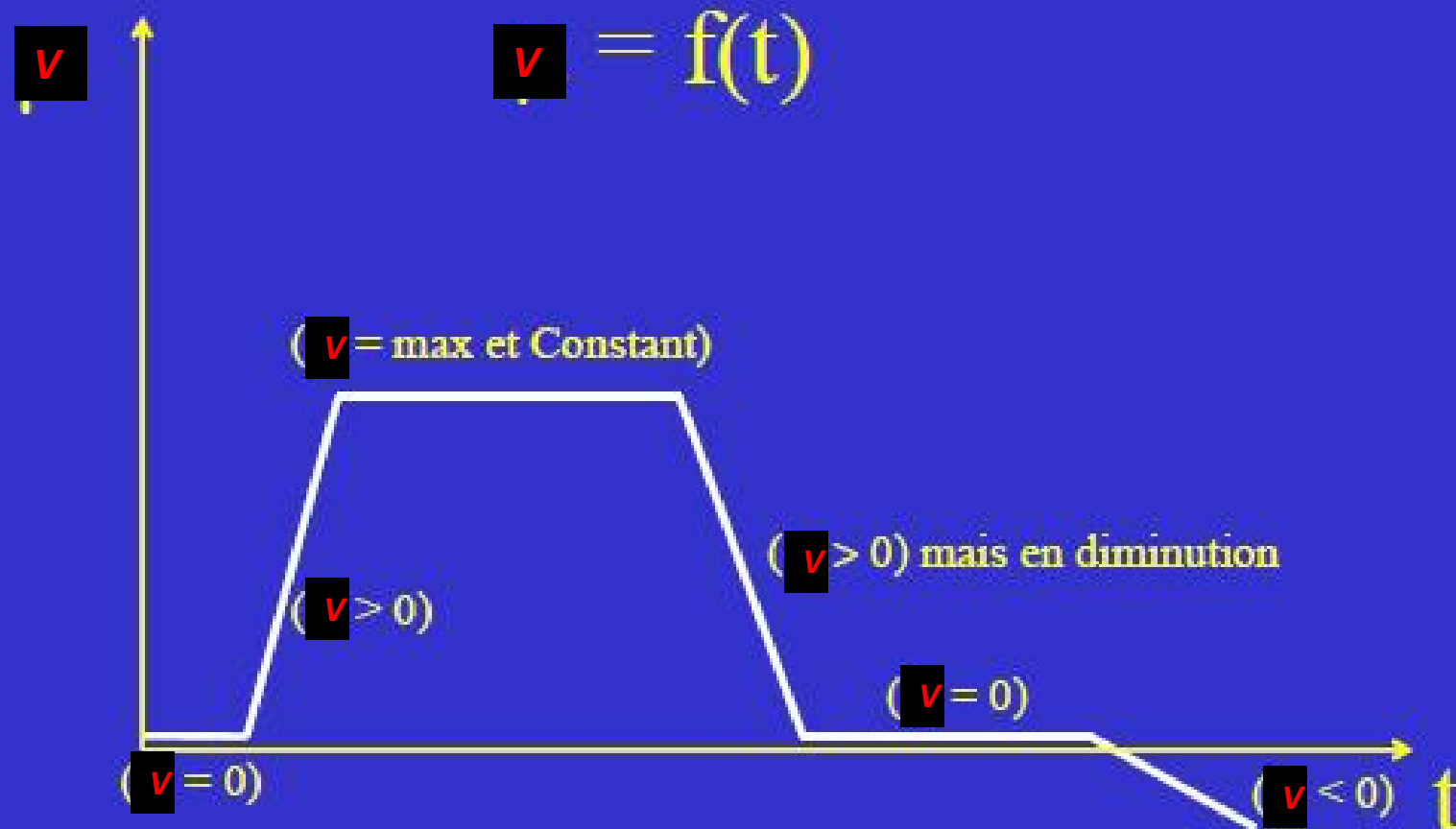
⑦ Les phases de croissance



VII.6 La phase de déclin

- ✓ Le taux de division est négatif ($\nu < 0$)
- ✓ Les bactéries ne se divisent plus, beaucoup meurent et certaines sont lysées.
- ✓ Cette phase est visible ou pas selon la méthode d'étude : nb bactéries viables (toujours) / turbidimétrie (si lyse).

⑧ Variation de \dot{v} pendant les phases de croissance

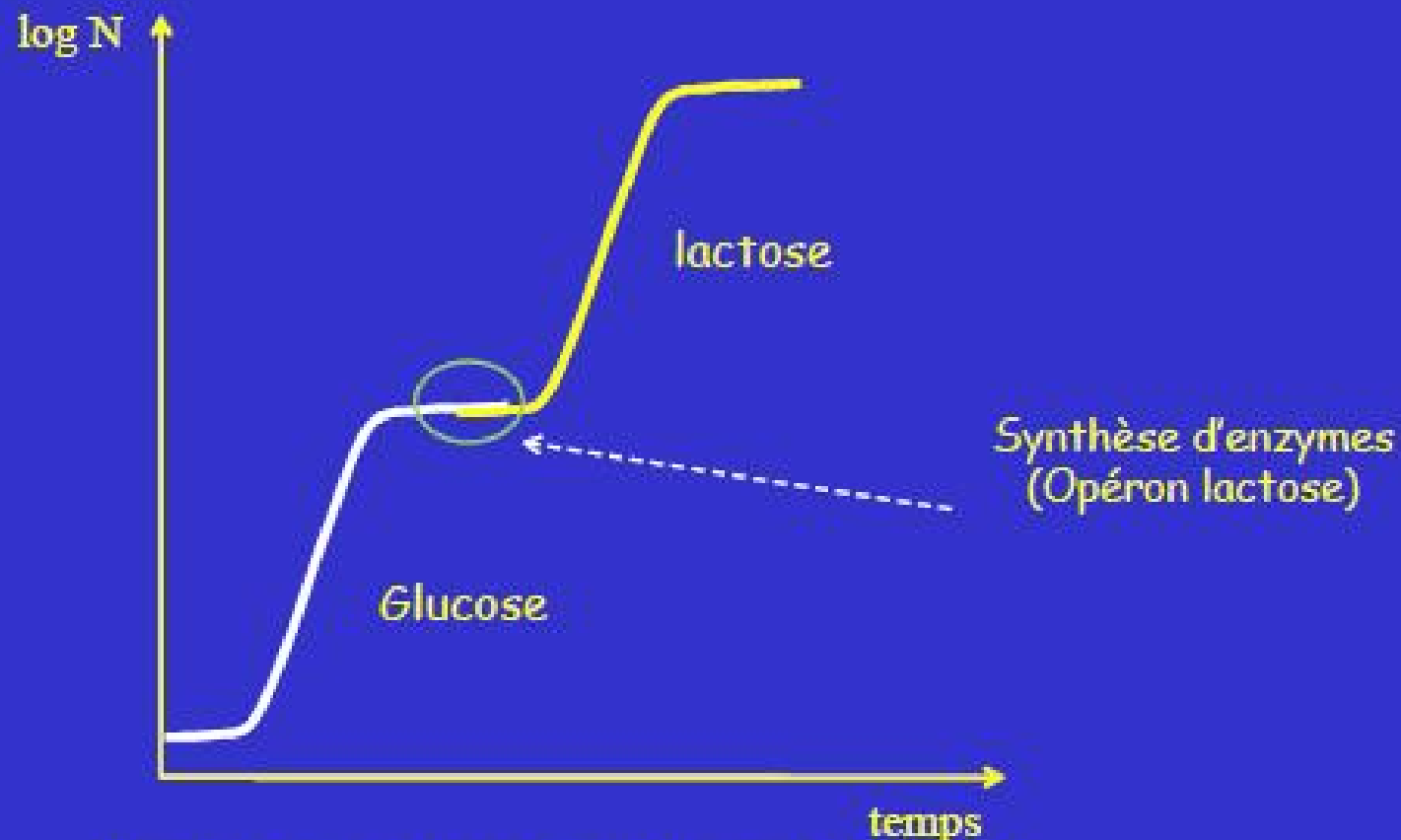


⑨ Cas particuliers de croissance

9.1. Cas de la diauxie

Croissance dans 1 milieu synthétique en présence de 2 substrats carbonés.

Exemple: croissance d'*E. coli* en présence de glucose et de lactose

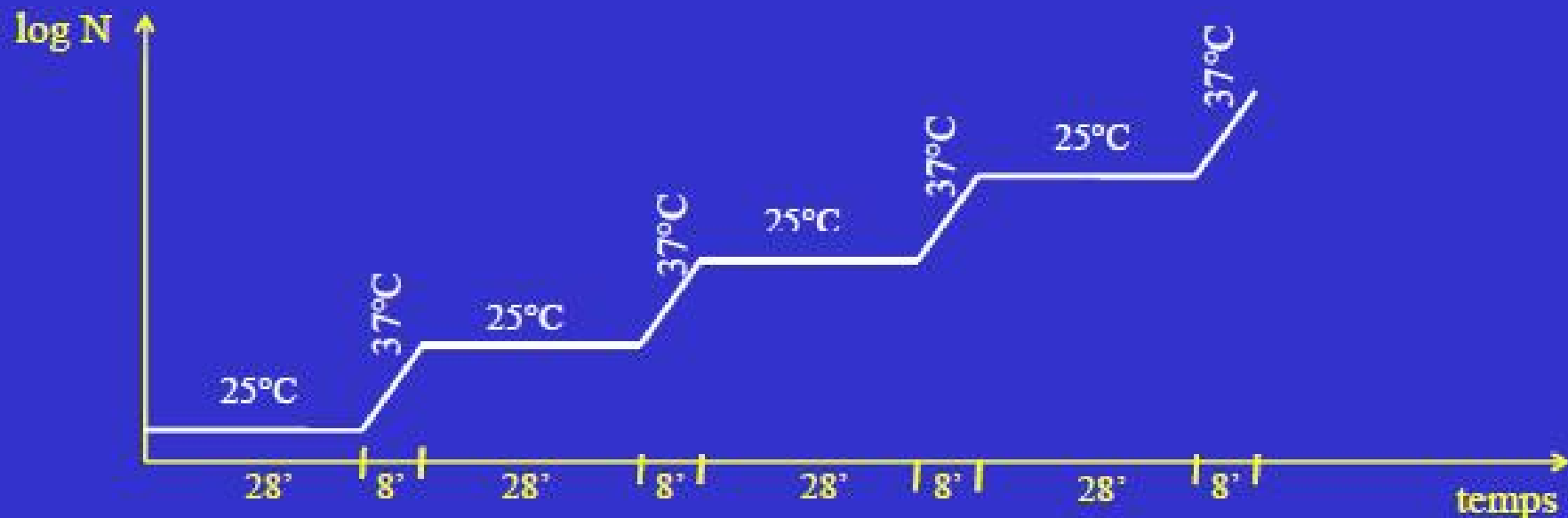


Courbe de croissance diauxique (diauxie)

9.2. Croissance synchrone

On peut amener les bactéries à se diviser au même moment, ce qui donnerait une croissance synchrone.

Par choc thermique chez *Salmonella typhimurium* : les bactéries sont incubées alternativement à une température de 25°C pendant 28 min, puis à 37°C pendant 8 min



La courbe montre une série de paliers successifs correspondant chacun à un doublement

IX.3 Croissance continue

- Dans les conditions habituelles de croissance, la phase exponentielle ne peut durer que quelques heures.
- Expérimentalement, on peut maintenir une culture en croissance exponentielle pendant plusieurs heures voire plusieurs jours.
- Pour cela, il faut renouveler constamment le milieu de culture tout en éliminant les produits résultant du métabolisme cellulaire.

C'est le principe des **fermenteurs industriels**.

Fermenteur de laboratoire

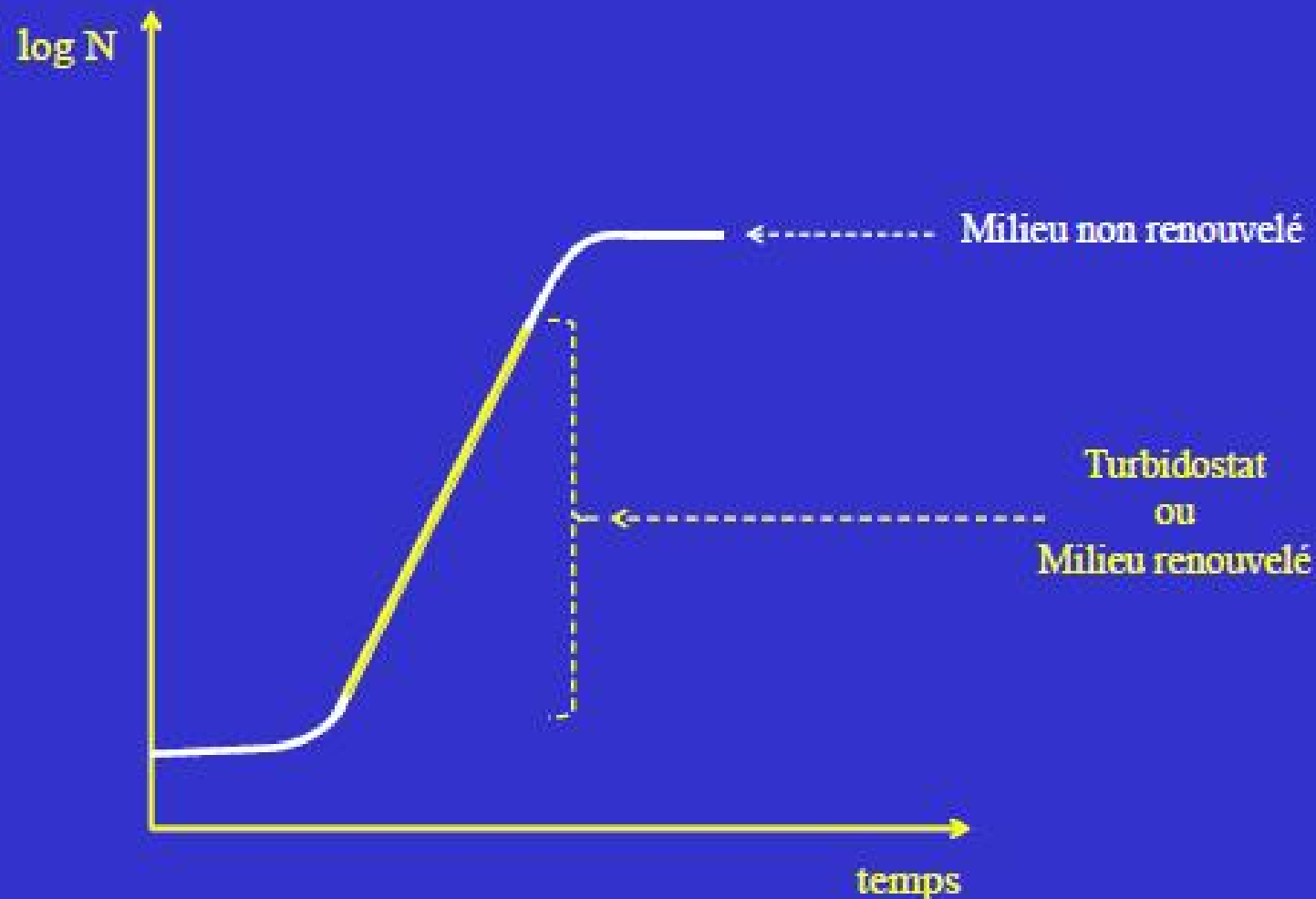


Fermenteurs industriels



μ : taux de croissance maximal et N : population constante

N est choisi en phase exponentielle et μ est maintenu constant par renouvellement du milieu



NB. régulation du taux de dilution qui doit être égal au taux de croissance

X. Facteurs influençant la croissance bactérienne

- ✚ Composition du milieu de culture.
- ✚ Facteurs physico-chimiques : pH, température, oxygène, a_w ,
- ✚ Agents antimicrobiens : antibiotiques, etc..

X.1 Composition du milieu de culture

- Le taux de division d'une bactérie dépend du milieu :

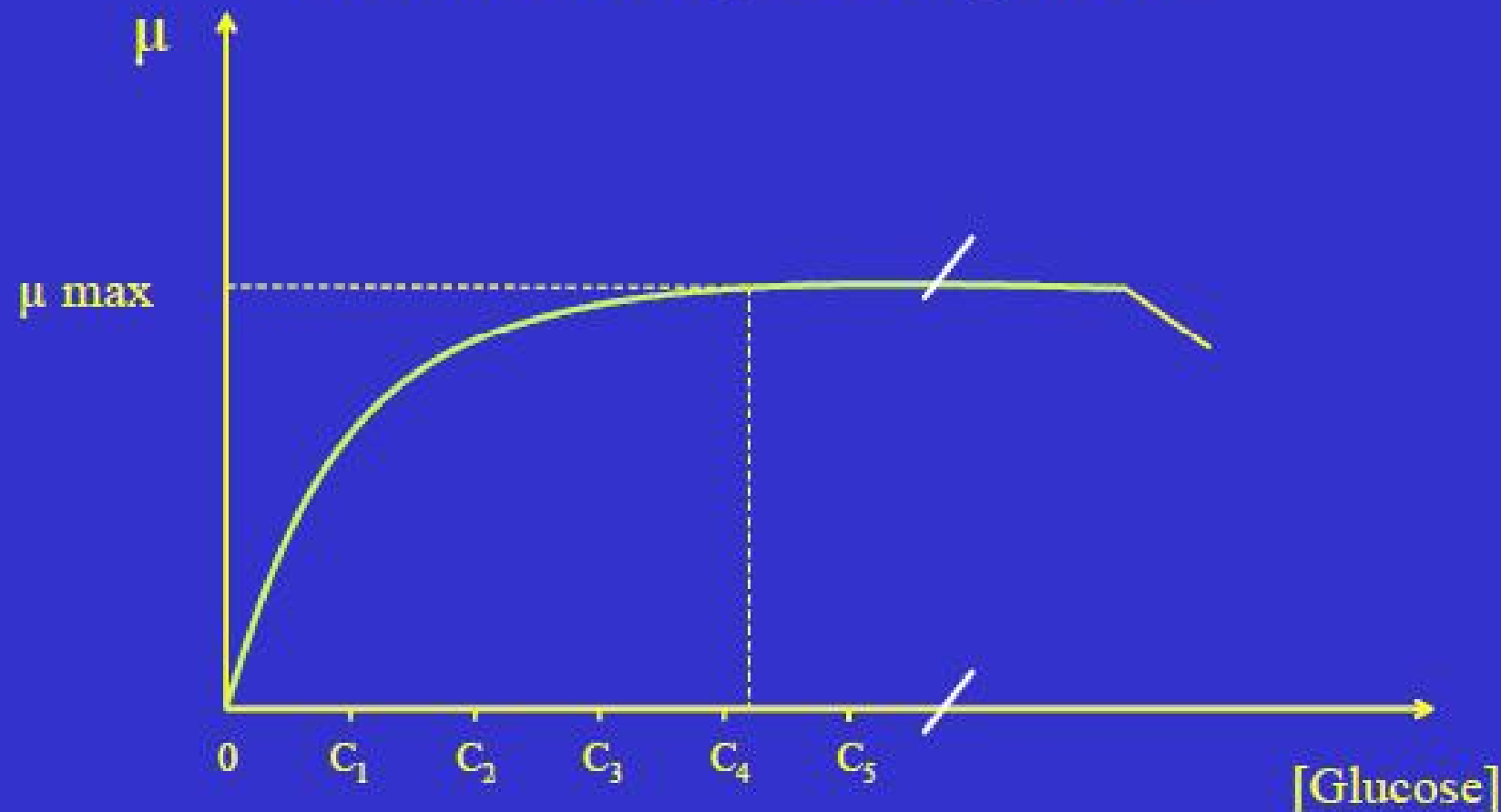
ex Bacillus subtilis

$\nu = 0,3 \text{ div / h}$ sur milieu synthétique,

$\nu = 3 \text{ div / h}$ sur bouillon nutritif.

Cas de l'effet de la concentration du substrat carboné

chez *E. coli*, μ augmente proportionnellement à la quantité de glucose jusqu'à une valeur à partir de laquelle il est inutile d'augmenter la concentration du glucose (C optimale).



NB: Un substrat fourni en concentration trop élevée peut avoir un effet bactériostatique (arrêt de croissance) ou bactéricide (mort des bactéries).⁵⁶

Substrat / rendement

En phase stationnaire, la biomasse cellulaire est directement proportionnelle à la concentration de la source de carbone.

Cette biomasse détermine le rendement.

$$R = \frac{X - X_0}{C} \times 100$$

Avec

X_0 = P.S. des bact. À t_0 (en g)

X = P.S. des bact. Phase stat.

C = Quantité substrat concerné.

A la concentration optimal, le taux de division est optimal mais le rendement peut continuer à augmenter.

X.2 Facteurs physico-chimiques

X.2.1 Effet du pH sur la croissance

La majorité des bactéries prolifèrent en milieux neutres ou légèrement alcalins (Tampon / exp. K_2HPO_4 et KH_2PO_4).

Il existe des bactéries présentent des tolérances particulières au pH :

Certaines exigent des pH bas : on parle de bactéries **acidophiles**

cas de *Thiobacillus thiooxidans* qui a un pH optimal autour de 2.

X.2 Facteurs physico-chimiques

X.2.1 Effet du pH sur la croissance

Inversement, les bactéries qui exigent un pH élevé sont dites des basophiles

Exp *Vibrio* a un pH optimal proche de 9.

Les bactéries ne se développant qu'au voisinage de la neutralité sont dites neutrophiles.

X.2.2 Effet de la pression osmotique (PO) sur la croissance

La bactérie accumule dans le cytoplasme une concentration élevée en substrats.



$PO_{\text{int.}} > PO_{\text{ext.}}$

Si forte augmentation de l'osmolarité du milieu extracellulaire

→ risque de flux d'eau → plasmolyse



Inhibition de processus vitaux : biosynthèse de macromécules,
réplication de l'ADN, etc.. : arrêt de la croissance.

X.2.2 Effet de la pression osmotique (PO) sur la croissance

pour éviter cela, la bactérie doit ajuster sa pression osmotique interne à une valeur supérieure celle du milieu externe.

C'est l'osmo-régulation de K^+ , d'acides aminés, sucres, etc..

Selon ce pouvoir d'osmo-régulation, on distingue 4 groupes de bactéries.

Groupe	Exemple	[NaCl] tolérée
Non Halophiles	<i>E. coli</i>	0 à 4 %
Halophiles	<i>Pseudomonas marina</i>	0,2 à 5 %
Halophiles modérés	<i>Pediococcus halophillus</i>	2,3 à 20,5 %
Halophiles extrêmes	<i>Halobacterium</i>	5 à 36 %

X.3 Agents antimicrobiens

Agents chimio-thérapeutiques :

Au sens strict :

Agent antimicrobien, produit par des microorganismes , tue ou inhibe d'autres microorganismes.

X.3 Agents antimicrobiens

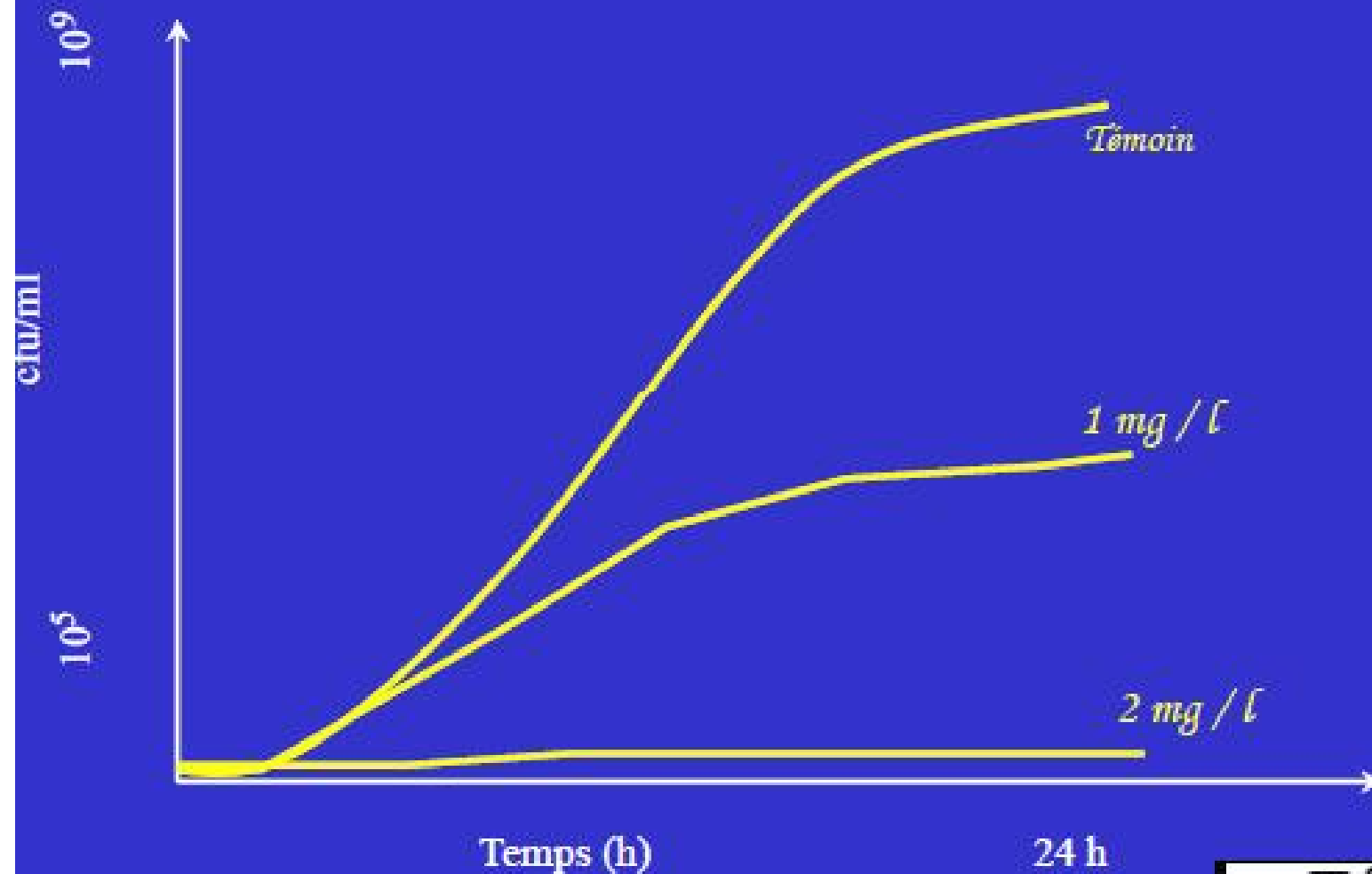
Au sens large :

Toute molécule de faible PM d'origine naturelle
(antibiotique) synthétique ou
hémisynthétique (*les Sulfamides*) pouvant
avoir un effet létal (bactéricide) ou statique
(bactériostatique).

La toxicité est sélective.

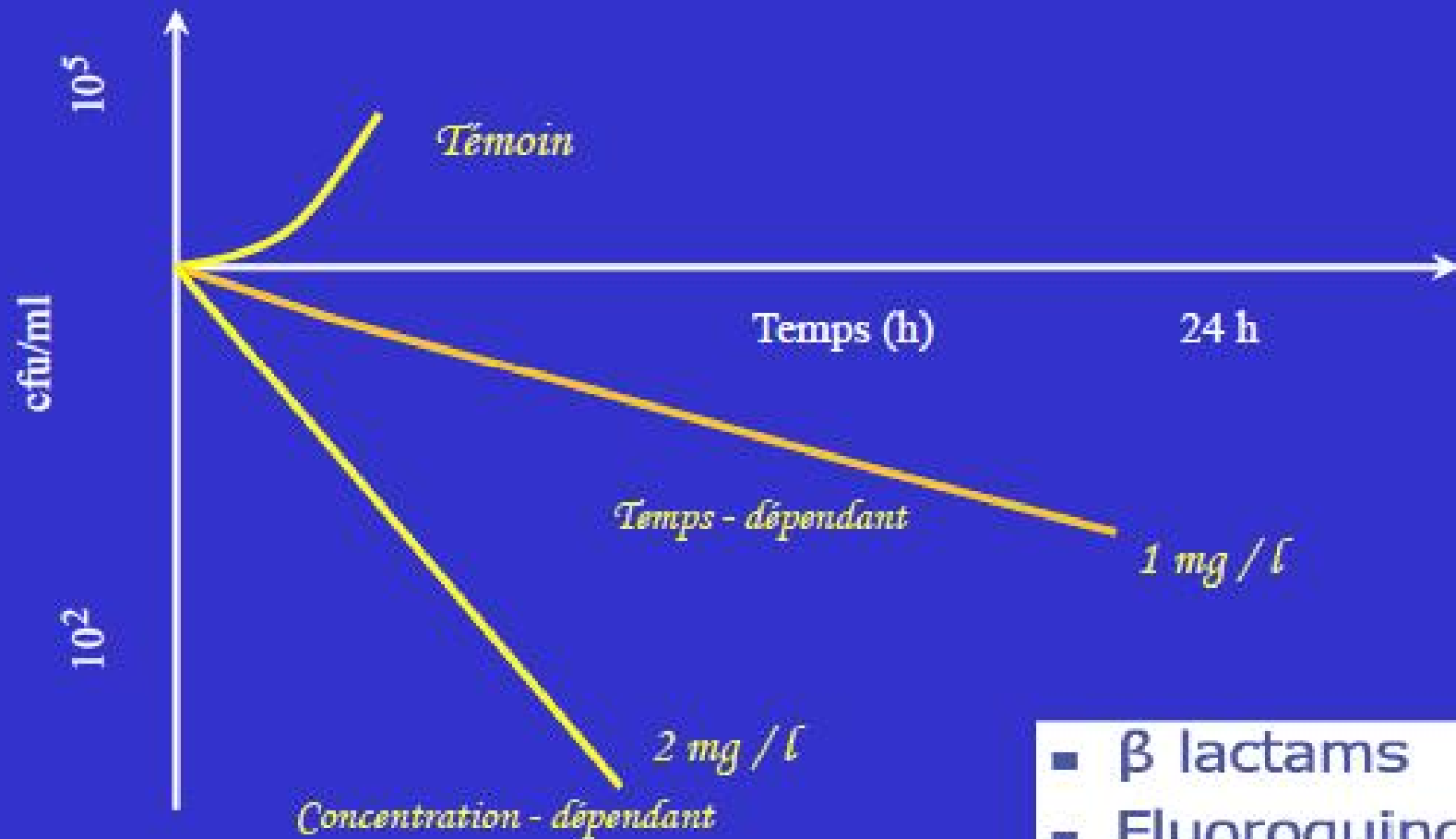
Modalité d'action:

Bactériostatique
inhibe la croissance



- Tétracycline
- Chloramphénicol
- Linezolide

Bactéricide tue les bactéries



- β lactams
- Fluoroquinolor
- Aminoglycosid
- Vancomycine⁶⁶

Mode d'action

- ✓ Action sur la synthèse de la paroi
- ✓ Action sur la membrane cytoplasmique
- ✓ Action sur la synthèse des protéiques
- ✓ Action sur les acides nucléiques

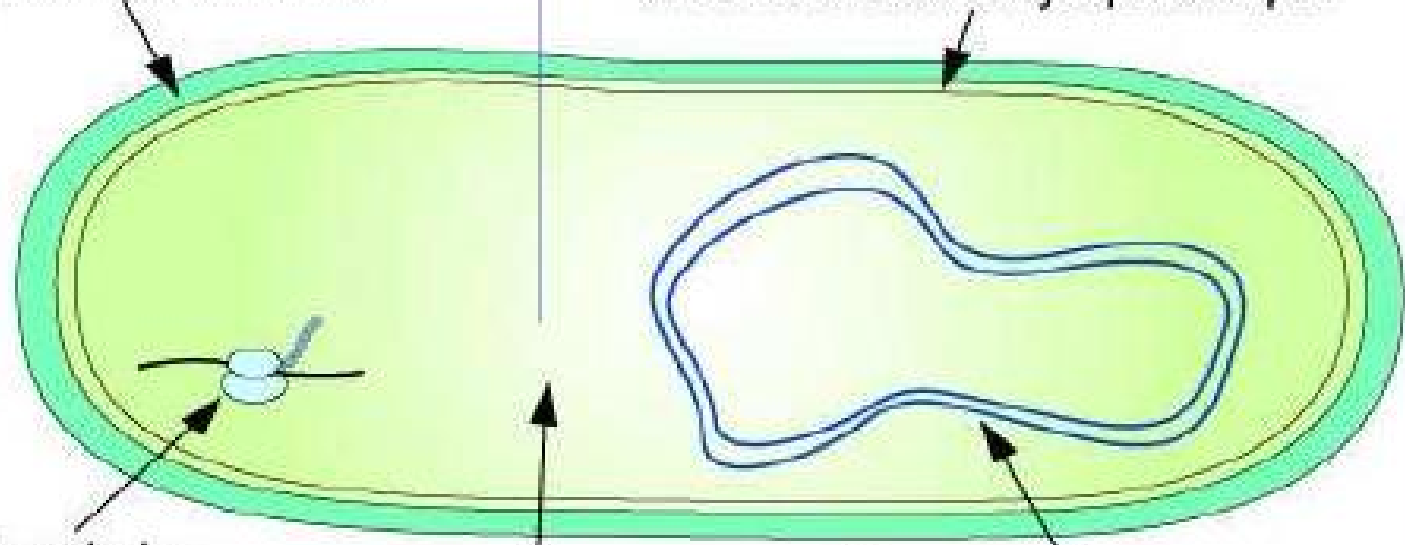
① Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne

② Inhibition de la synthèse de la membrane cytoplasmique

③ Inhibition de la synthèse protéique

④ Inhibition de la synthèse de l'ADN

⑤ Autres mécanismes



Action sur la synthèse de la paroi

- Ex. La *Pénicilline* = analogue structural du dipeptide D-alanine, il empêche son incorporation dans la chaîne peptidique.
- Il y a multiplication mais lyse cellulaire par la suite de l'absence de la néo-synthèse de la paroi.
- Action pendant la phase active de la croissance :
Effet bactéricide.

Action sur la membrane cytoplasmique

Ex. La *Polymixine* = Antibiotique de nature polypeptidique qui altère la membrane plasmique en y formant des pores qui seront à l'origine de perturbation des échanges membranaires.

Action pendant et en dehors de la croissance : Effet bactéricide.

Action sur la synthèse des protéines

- Les antibiotiques agissent sur les ribosomes pour empêcher la lecture du code ou le fausser.
- Ex. 1 : L'*Erythromycine* se fixe au niveau de l'unité 50 S du ribosome. Elle empêche la fixation du complexe acides aminés-ARNt.
 - Inhibition de la synthèse protéique.

Action pendant la phase active de la croissance :
Effet bactériostatique.

Ex. 2 : La *Streptomycine* se fixe au niveau de l'unité 30S du ribosome.

Il y a des erreurs de la lecture du code génétique et l'incorporation d'acide aminé ne correspondant pas à l'information des ARNm.

Il y a synthèse des protéines non sens (létales).

Action pendant la phase active de la croissance :
Effet bactéricide.

Action sur les acides nucléiques

Action sur l'ADN :

- Ex. 1 : La *Mitomycine* forme des ponts entre les hélices de l'ADN
- Elle empêche la réplication par la polymérase et bloque la croissance.

Action pendant la phase active de la croissance : Effet bactériostatique.

Action sur l'ARN :

Ex. 2 : L'*Actinomycine* bloque l'ARN polymérase.

Le classement des organismes selon la température

- ✓ Quatre grands groupes de micro-organismes:
 - les psychrophiles (température optimale basse (4°C)),
 - les mésophiles (température optimale moyenne (39°C)),
 - les thermophiles (température optimale élevée (60°C))
 - et les hyperthermophiles (température optimale très élevée (88°C voire 106°C) [figure suivante]).
- ✓ Les mésophiles se retrouvent chez les animaux à sang chaud ainsi que dans les environnements terrestres ou aquatiques des latitudes tempérées à tropicales.

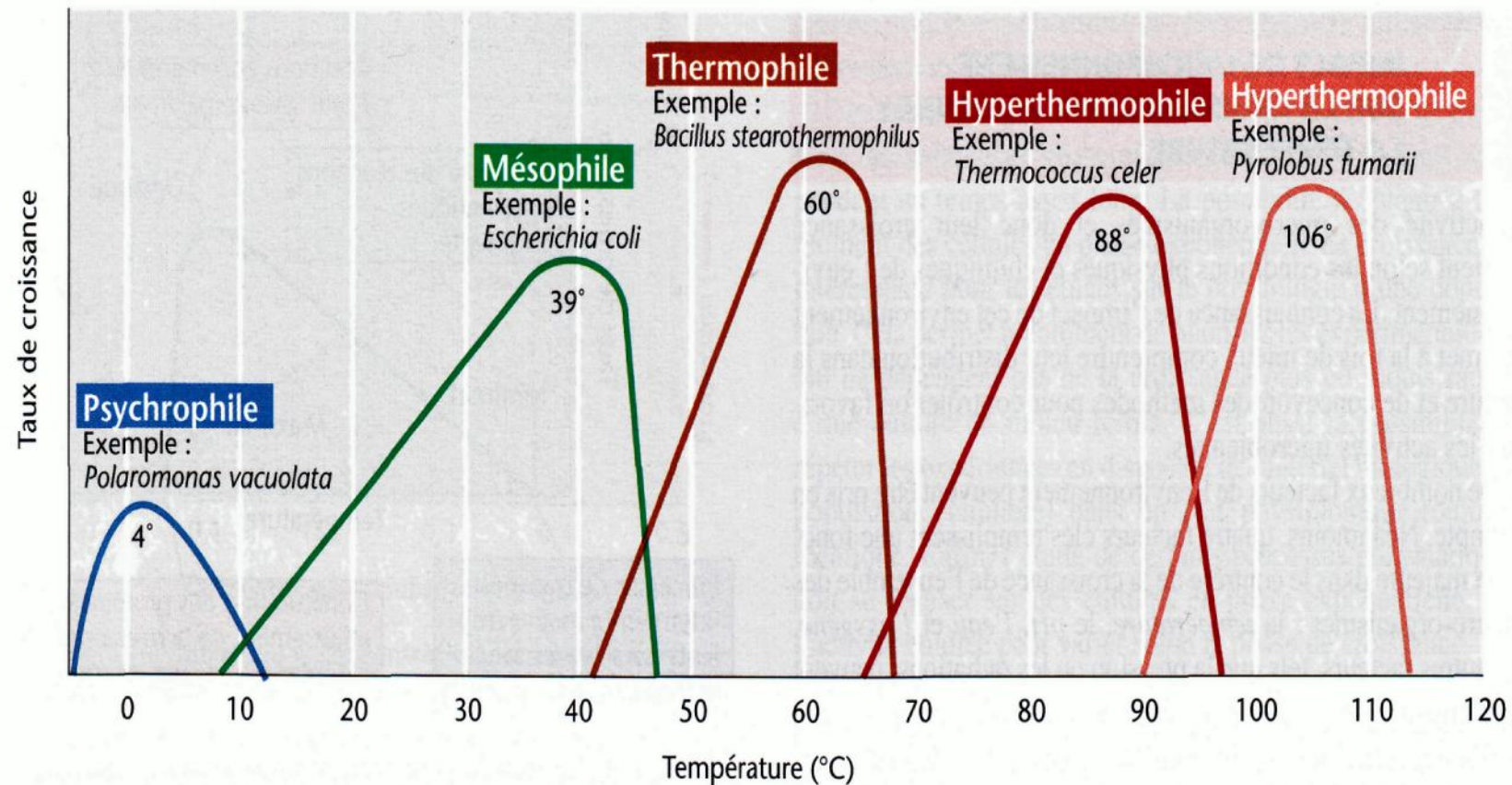


FIGURE 6.17 Relation vis-à-vis de la température d'organismes psychrophiles, mésophiles, thermophiles et de différents hyperthermophiles. Les températures optimales des différents organismes cités en exemple sont indiquées sur les courbes. Les hyperthermophiles ont des températures optimales supérieures à 80 °C.

La classification des micro-organismes vis-à-vis de l'oxygène

- ✓ Les **aérobies** (l'air contient 21 % d'O₂) et ils respirent l'oxygène au cours de leur métabolisme.
- ✓ De nombreux aérobies sont **facultatifs** c'est-à-dire que, selon les conditions du milieu (nutriments notamment), ils pourront se développer en conditions **oxiques** ou **anoxiques**.
- ✓ Les **microaérophiles** utilisent l'oxygène à des pressions partielles réduites (conditions *micro-oxiques*). Ceci est dû au fait que leurs capacités de respiration sont limitées ou bien qu'ils contiennent des molécules sensibles à l'oxygène telles que certaines enzymes.

- ✓ **Anaérobies** ne peuvent pas utiliser l'oxygène. Il y a des anaérobies aérotolérants, qui tolèrent la présence d'oxygène même s'ils ne peuvent pas l'utiliser; et les anaérobies stricts, qui sont inhibés ou tués en présence d'oxygène. Les raisons pour lesquelles les anaérobies stricts sont ainsi détruits pourraient être qu'ils ne peuvent éliminer certains produits toxiques issus du métabolisme de l'oxygène.

La classification des micro-organismes vis-à-vis de l'oxygène (suite)

- ✓ Le genre le + connu est *Clostridium* : bacilles anaérobies Gram positif formant des endospores, largement répandus dans les sols, les sédiments et les tractus intestinaux, et responsables de la détérioration de produits alimentaires en conserve.

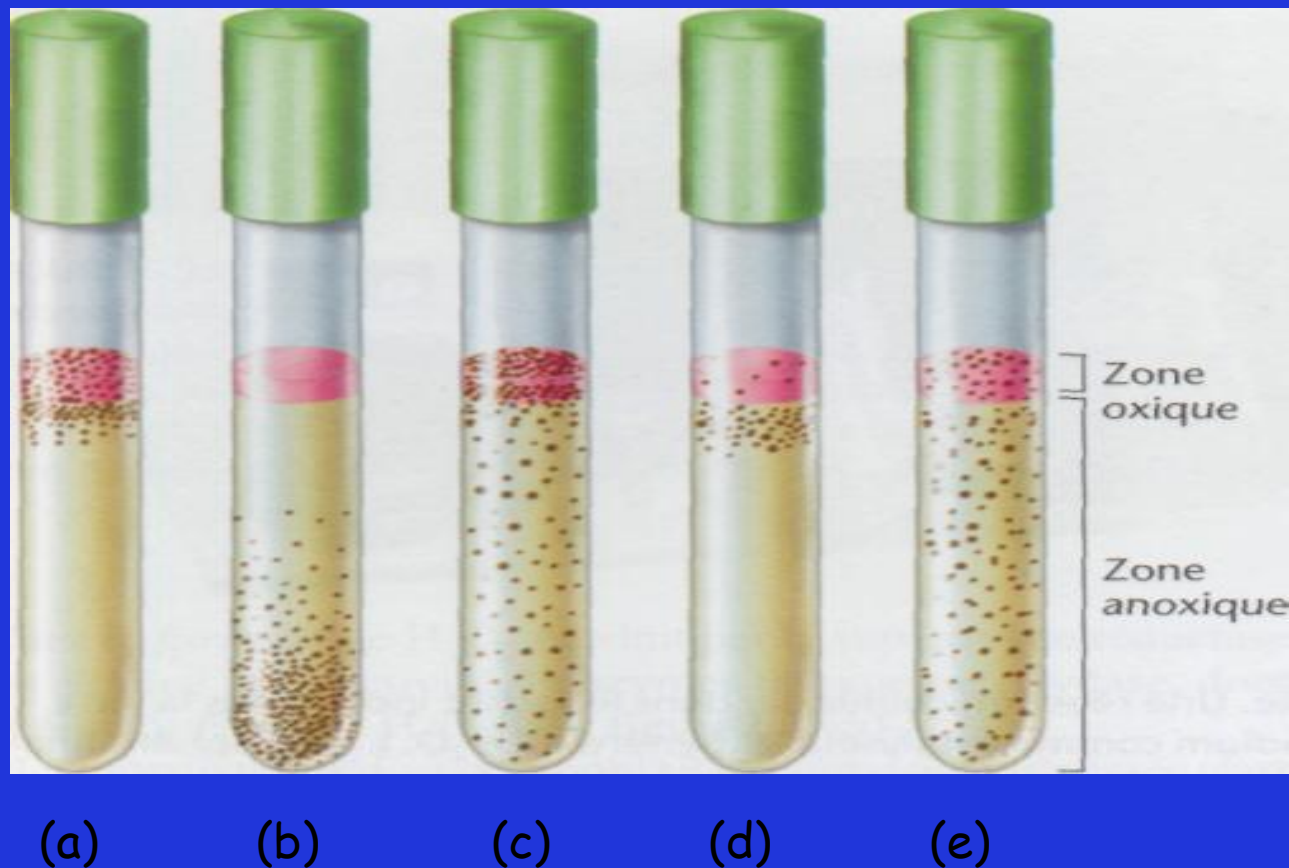


FIGURE 13 Croissance en fonction de la concentration en oxygène. Localisation des colonies révélant la croissance d'organismes aérobies stricts, anaérobies, anaérobies facultatifs, microaérophiles et anaérobies aérotolestants. Du fait de la faible pénétration de l'oxygène dans le tube, (a) **les aérobies stricts** ne se développent qu'en surface, (b) **Les anaérobies**, sensibles à l'oxygène, ne se développent qu'en profondeur, (c) **Les anaérobies facultatifs**, pouvant se développer en présence ou en absence d'oxygène, se répartissent dans l'ensemble du tube ; néanmoins la croissance est meilleure en surface, où ces organismes effectuent une respiration aérobie, (d) **Les microaérophiles** se développent mieux dans des zones où la concentration en oxygène est faible mais non nulle, (e) **Les anaérobies aérotolestants** se développent dans l'ensemble du tube ; néanmoins leur croissance n'est pas meilleure en surface, car ils sont seulement capables de fermentation.

- ✓ Afin d'éliminer toute trace d'oxygène, on incube les tubes ou les boîtes dans une jarre à paroi épaisse (*jarre anaérobie*), fermée hermétiquement par un couvercle étanche aux gaz et contenant un système qui va consommer l'oxygène (figure suivante). L'air dans la jarre est remplacé par un mélange de H_2 et CO_2 , et en présence d'un catalyseur les traces d'oxygène seront consommées par l'hydrogène ($H_2 + O_2 \rightarrow H_2O$), ce qui aboutira à l'anoxie.



Deborah O. Jung et Michael T. Madigan

(a)



Coy Laboratory Products

(b)

FIGURE 6.26 Incubation en conditions anoxiques. (a) Jarre anaérobie. Une réaction chimique, dans le sachet inclus dans la jarre, génère $H_2 + CO_2$; le H_2 produit réagit avec le O_2 en présence de palladium comme catalyseur et génère du H_2O . L'atmosphère finale contient du H_2 , du N_2 et du CO_2 . (b) Enceinte anaérobie (boîte à gants) pour la manipulation et l'incubation en conditions anoxiques. Le sas sur la droite peut être purgé avec du gaz sans oxygène et sert à l'introduction et au retrait de matériel de l'enceinte.

Le chimostat (fermenteur)

- ✓ Existe plusieurs systèmes de culture continue, le plus courant est le **chimostat** (figure suivante). Il permet de contrôler à la fois le *taux de division* et la *densité des populations*.
- ✓ Deux paramètres pour permettre ce contrôle : le *taux de dilution* et la *concentration en facteur limitant* (source de carbone ou d'azote par exemple).

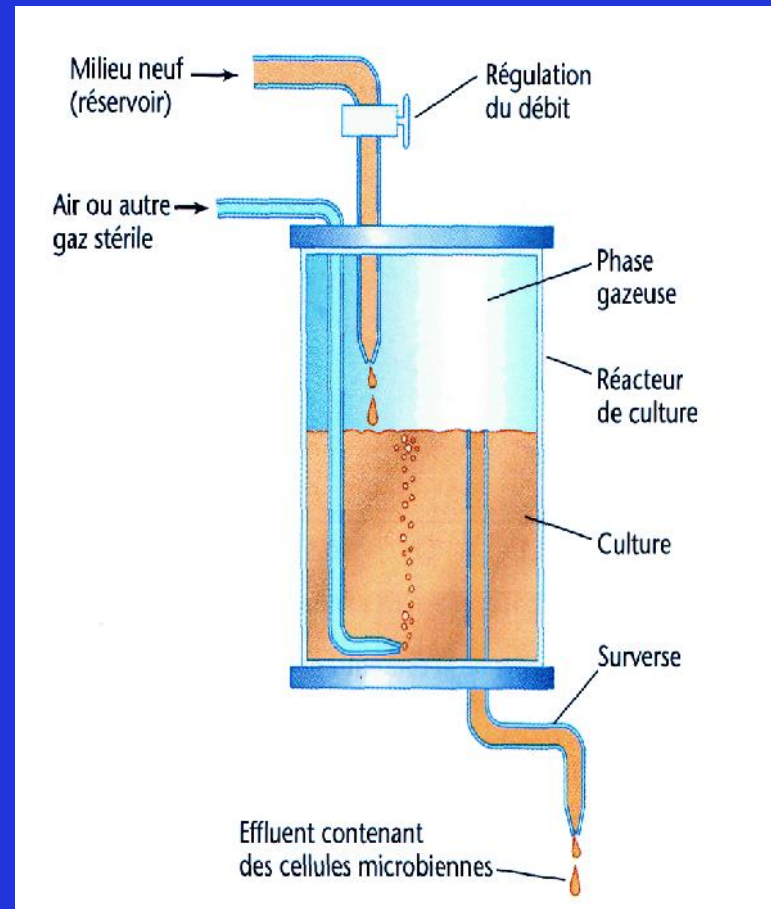


FIGURE Représentation schématique d'un chémostat.

La densité de la population est contrôlée par la concentration en substrat limitant dans le réservoir de milieu neuf, alors que le taux de division est contrôlé par le débit de milieu neuf. Ces deux paramètres sont choisis par l'expérimentateur.

III. Mesure de la Croissance microbiennes

- . La culture continue en chémostat

Le chémostat

- ✓ Dans une culture en milieu fermé (tube à essai), la concentration en nutriment a une influence sur le taux de division et sur la production de biomasse.

Merci de votre Attention

Module : DEUST B 245

MICROBIOLOGIE

Professeur O. CHARAFEDDINE
2014/2015

Partie 2 :
LA division cellulaire

1. La croissance cellulaire et la fission binaire

- ✓ La cellule bactérienne a une vie limitée et le maintien d'une espèce est lié à une croissance continue de sa population.
- ✓ Le processus de la croissance bactérienne fait intervenir plus de 2000 réactions chimiques.
 - Certaines sont d'ordre énergétique,
 - d'autres impliquent la biosynthèse de petites molécules (monomères, des macromolécules),
 - ou sont responsables de l'approvisionnement en cofacteurs et coenzymes nécessaires pour les réactions enzymatiques.

1. La croissance cellulaire et la fission binaire

NB:

- ✓ Les principales réactions sont de polymérisation ou les macromolécules seront formées à partir de monomères.
- ✓ Elles seront assemblées en structures telles que : paroi cellulaire, membrane cytoplasmique, flagelles, ribosomes, inclusions cytoplasmiques, complexes enzymatiques, ce qui aboutira finalement à la division cellulaire.

1. La croissance cellulaire et la fission binaire

La fission binaire

Chez une bactérie en forme de bâtonnet telle qu'*Escherichia coli*, les cellules s'allongent jusqu'à atteindre deux fois leur longueur d'origine, puis se divisent pour finalement se séparer et former deux cellules filles (figure 1). Par définition, une génération est survenue.

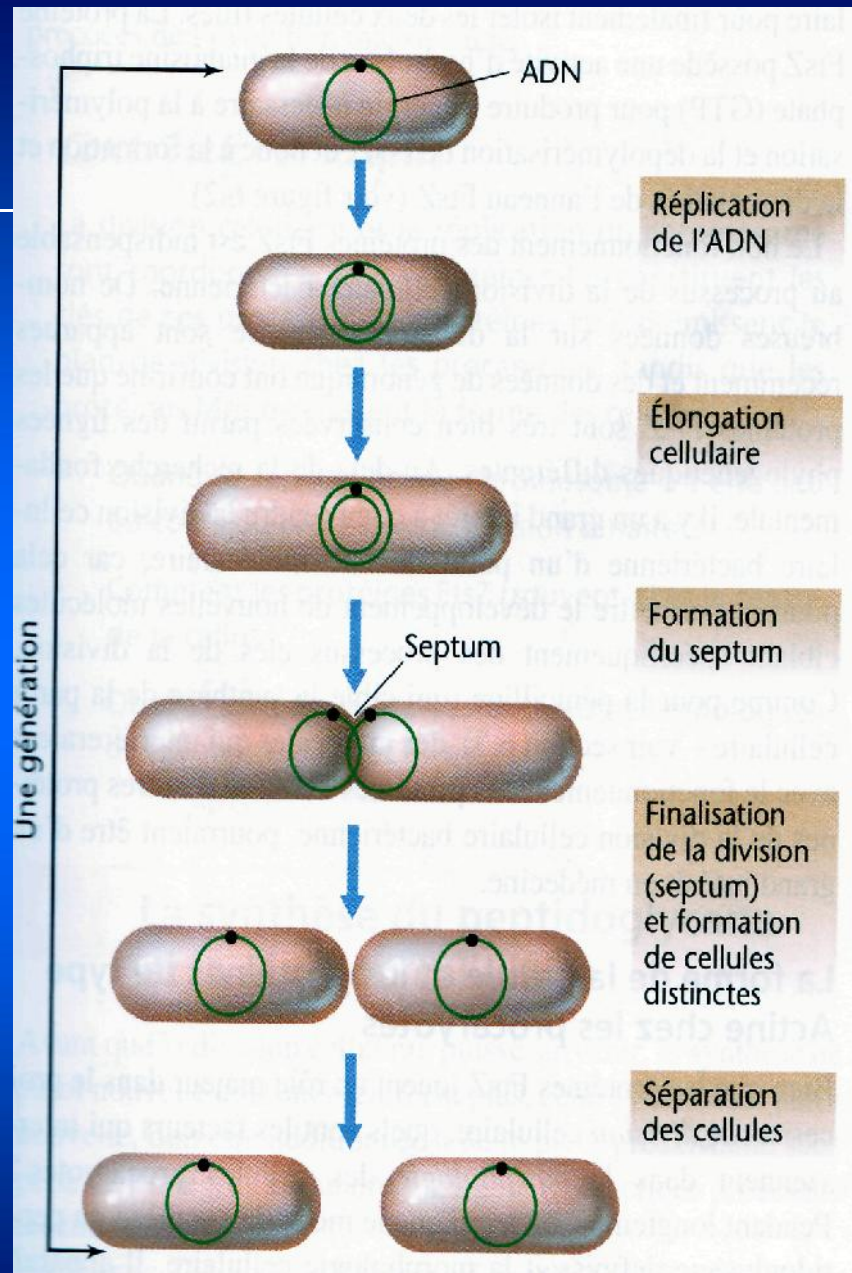


Figure 1. Processus général de fission binaire chez une cellule procaryote en forme de bâtonnet. le nucléotide est représenté par un cercle vert.

1. La croissance cellulaire et la fission binaire

La fission binaire

- ✓ Durant la division, l'ADN se duplique ainsi que les autres constituants. Divers systèmes enzymatiques participent à la division cellulaire (synthèse et de dégradation).
- ✓ Le temps nécessaire pour une génération est très variable et dépend de nombreux facteurs, tant nutritionnels que génétiques.
- ✓ Dans des conditions nutritionnelles optimales, la bactérie *E. coli* peut accomplir un cycle en une vingtaine de minutes.

2. Les protéines Fts, le plan de division cellulaire et la morphologie cellulaire

- ✓ Les protéines Fts sont essentielles dans la division cellulaire; Fts signifie «filaments sensibles à la température » («filamentous temperature sensitive » en anglais).
- ✓ Si mutation dans le gène codant les protéines Fts pas de division.

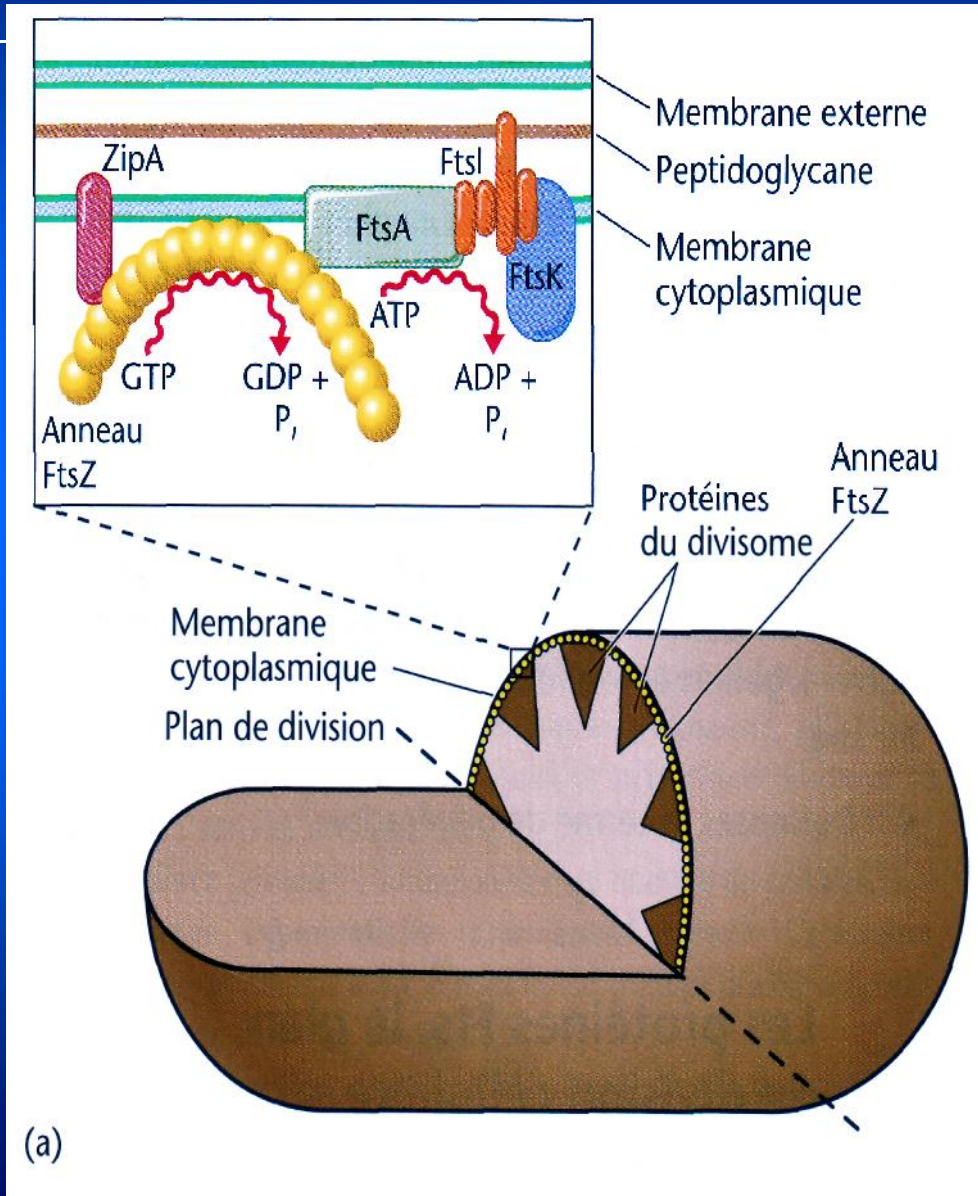


FIGURE 6.2 L'anneau FtsZ et la division cellulaire, (a) Plan de coupe d'une cellule en bâtonnet montrant l'anneau de protéines FtsZ tout autour du plan de division.

(b) L'agrandissement montre la disposition des protéines du divisome. ZipA constitue l'attache de FtsZ, FtsI est une protéine de la biosynthèse du peptidoglycane, FtsK intervient dans la séparation du chromosome, et FtsA est une ATPase.

Les protéines Fts et la division cellulaire

✓ Parmi les FTs :

- FtsZ : Protéine sous forme d'**anneau** déclenche la division au centre de la cellule. Existe chez tous les procaryotes, et aussi dans les mitochondries et les chloroplastes, (témoins de l'évolution entre ces organites et les bactéries. Ont des similitudes avec les tubulines, protéines intervenant dans la division cellulaire des eucaryotes.

Cet anneau attire d'autres protéines impliquées dans la division cellulaire telles que FtsA et ZipA .

Le point d'ancrage (= divisome) deviendra le plan de division cellulaire.

- ZipA permet l'ancrage de l'anneau formé par les protéines FtsZ à la membrane cytoplasmique.
- FtsA est une ATP-hydroxylase qui va fournir l'énergie nécessaire pour l'assemblage des nombreuses protéines dans divisome ;

La réplication de l'ADN et la division cellulaire

- ✓ La réplication de l'ADN se fait avant la formation de l'anneau FtsZ. C'est l'arrêt de la synthèse d'ADN qui constitue le signal pour la formation de cet anneau qui se forme entre les deux nucléoïdes.
- ✓ La localisation du centre de la cellule par les protéines FtsZ se réalise grâce à des protéines Min, notamment les protéines MinC et MinE.
 1. MinC inhibe la division cellulaire et empêche la formation de l'anneau FtsZ tant que la localisation précise du centre n'a pas été définie.
 2. MinE inhibe l'activité de MinC et se fixe au centre de la cellule. Son activité déclenche l'attachement des protéines FtsZ et le début du divisome.

2. Les protéines Fts, le plan de division cellulaire et la morphologie cellulaire

La réplication de l'ADN et la division cellulaire (suite)

- ✓ Au fur et à mesure de l'élongation cellulaire, les deux copies du chromosome sont séparées, chacun vers sa propre cellule fille (voir figure 1).
- ✓ Plusieurs protéines Fts, dont la protéine FtsK, interviennent dans ce processus (figure 2). Lors de la constriction, l'anneau de protéines FtsZ se dépolymérise, déclenchant la croissance vers l'intérieur du matériel cellulaire pour finalement isoler les deux cellules filles.
- ✓ La protéine FtsZ possède une activité d'hydrolyse de la guanosine triphosphate (GTP) pour produire l'énergie nécessaire à la polymérisation et la dépolymérisation de FtsZ, et donc à la formation et la dissociation de l'anneau FtsZ (figure 2).

2. Les protéines Fts, le plan de division cellulaire et la morphologie cellulaire

La réplication de l'ADN et la division cellulaire (suite)

- ✓ De nombreuses données sur la division cellulaire sont apparues récemment et des données de génomique ont confirmé que les protéines FtsZ sont très bien conservées parmi des lignées phylogénétiques différentes.
- ✓ Au-delà de la recherche fondamentale, il y a un grand intérêt à comprendre la division cellulaire bactérienne d'un point de vue moléculaire, car cela pourrait permettre le développement de nouvelles molécules ciblant spécifiquement des processus clés de la division.

Comme pour la pénicilline (qui cible la synthèse de la cellule), des molécules qui interféreraient avec le fonctionnement des protéines FtsZ, ou d'autres protéines de la division cellulaire bactérienne, pourraient être d'un grand intérêt en médecine.

La forme de la cellule et les protéines de type Actine chez les procaryotes

- ✓ Pendant longtemps, on a cru que le mode de synthèse du peptidoglycane définissait la morphologie cellulaire.
- ✓ La principale « protéine de forme » chez les procaryotes est appelée **MreB**. Cette protéine constitue un cytosquelette de type actine chez les Bacteria, et probablement aussi chez les Archaea.
- ✓ Les protéines MreB forment des anneaux filamenteux en spirales tout autour de l'intérieur de la cellule, sous la membrane cytoplasmique. Ce cytosquelette MreB définit probablement la forme de la cellule en générant une contrainte pour la membrane cytoplasmique.

2. Les protéines Fts, le plan de division cellulaire et la morphologie cellulaire

La forme de la cellule et les protéines de type Actine chez les procaryotes (suite)

- ✓ Les cellules procaryotes produisent d'autres protéines identiques, du point de vue de leur structure, aux **tubulines** et **actines** des eucaryotes, impliquées respectivement dans la division cellulaire et l'échafaudage de la partie interne de la cellule.

3. La synthèse du peptidoglycane et la division cellulaire

- ✓ Avant que la division cellulaire puisse survenir, la synthèse de paroi nouvelle doit intervenir. De plus, cette nouvelle synthèse, doit être additionnée à de la paroi préexistante sans perte de l'intégrité cellulaire.

3. La synthèse du peptidoglycane et la division cellulaire

- ✓ À la base de l'anneau FtsZ, de petites ouvertures sont créées dans la paroi cellulaire grâce à des enzymes, appelées **autolysines**, dont la fonction est analogue à du lysozyme. Les autolysines sont présentes au sein du complexe protéique du divisome.

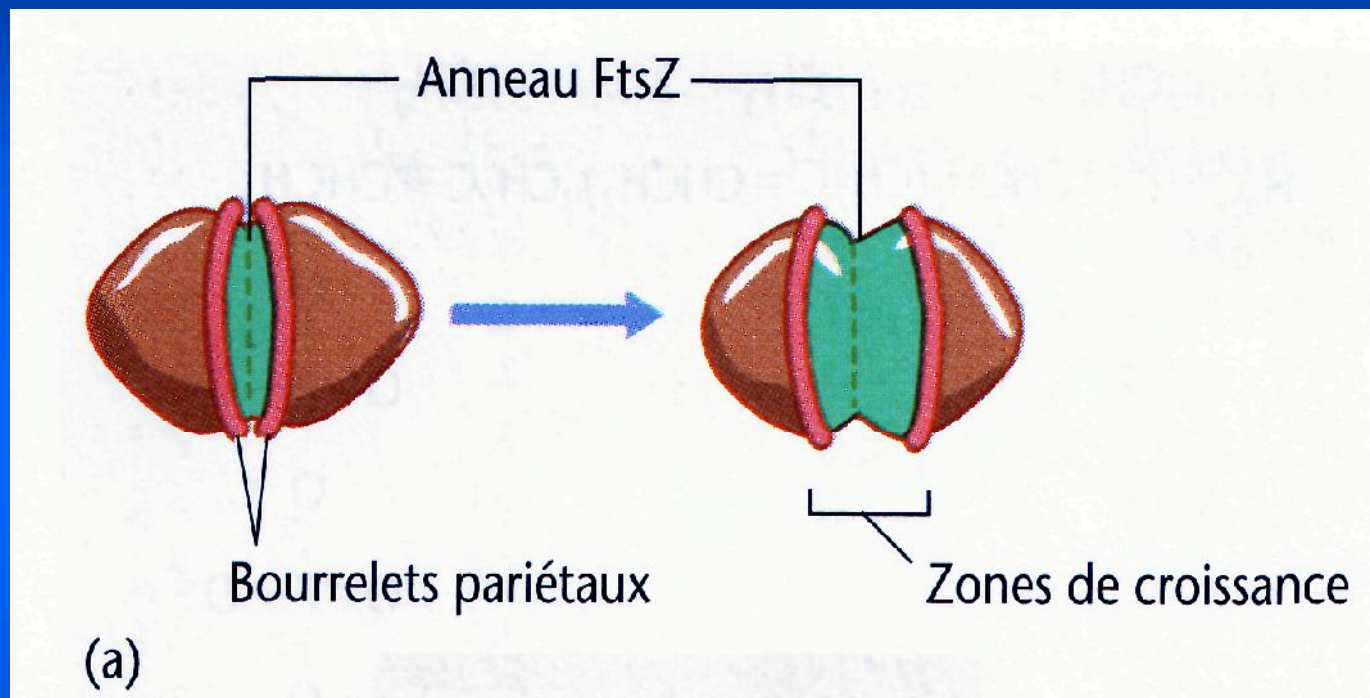


FIGURE 6,3 Synthèse de la paroi chez une bactérie Gram positif, (a) Localisation de la nouvelle paroi synthétisée lors de la division cellulaire. Chez les coques, la synthèse de la paroi (en vert) est localisée en un seul point. L'anneau FtsZ (voir figure 6.2) définit le plan de division.

La biosynthèse du peptidoglycane

- ✓ La synthèse du nouveau peptidoglycane, lors de la croissance, nécessite la coupure contrôlée de l'ancien peptidoglycane par les autolysines et l'insertion simultanée des précurseurs du nouveau peptidoglycane.



FIGURE 6,3 (b) **Synthèse de la paroi chez une bactérie Gram positif,** Observation au microscope électronique à balayage de cellules de *Streptococcus hemolyticus* montrant les bourrelets pariétaux (indiqués par les flèches blanches). Une cellule mesure 1 μm de diamètre.

3. La synthèse du peptidoglycane et la division cellulaire

La biosynthèse du peptidoglycane

- ✓ Une molécule transporteuse de lipides, le **bactoprénol** (figure suivante) joue un rôle majeur dans ce processus. Le bactoprénol est une molécule d'alcool en C55 qui se lie aux précurseurs du peptidoglycane N-acétyl glucosamine/acide N-acétyl muramique/pentapeptide (figure).

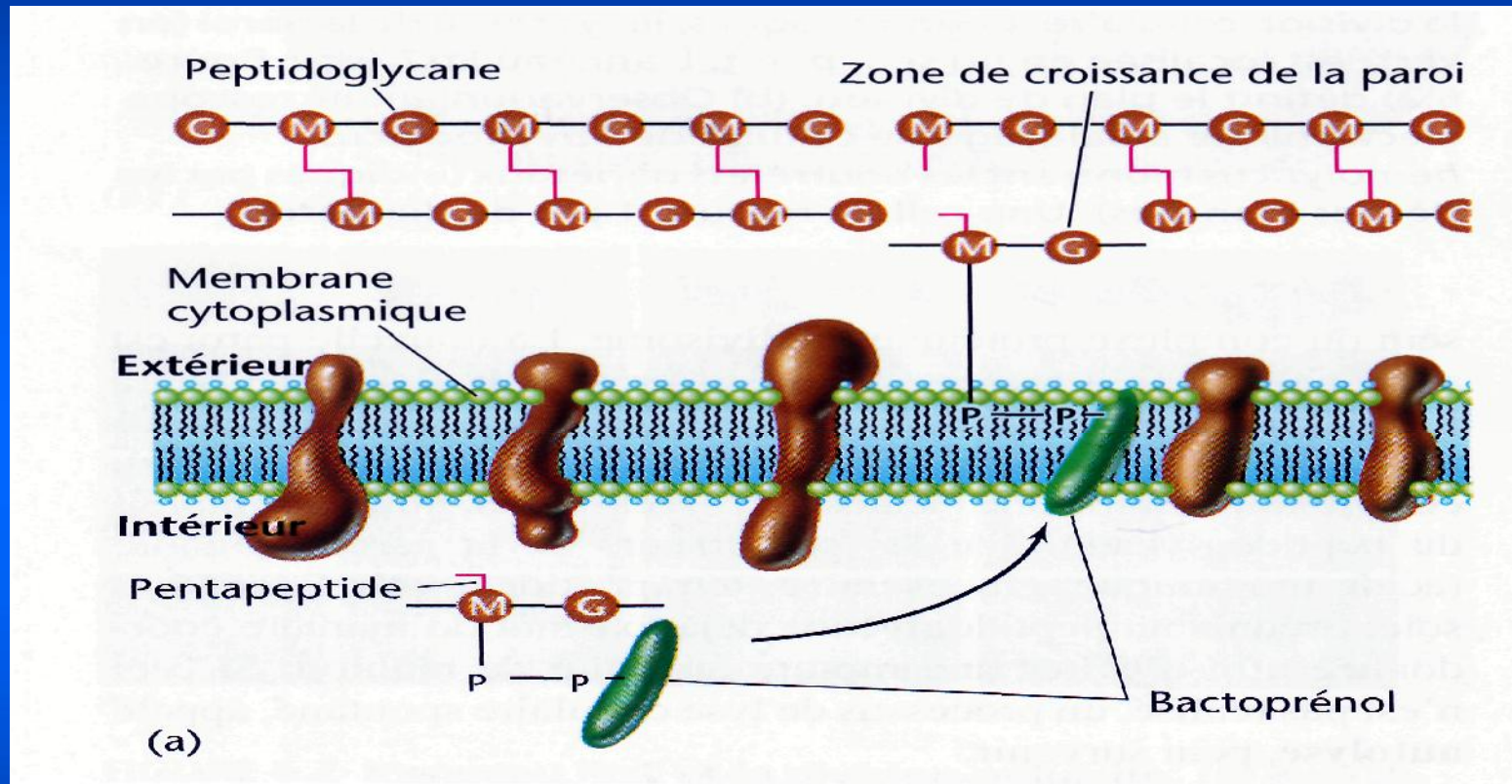


FIGURE 6.5 Synthèse du peptidoglycane . (a) Transport des précurseurs au travers de la membrane cytoplasmique vers la zone de croissance de la paroi cellulaire.

3. La synthèse du peptidoglycane et la division cellulaire

La biosynthèse du peptidoglycane

- ✓ Le bactoprénol transporte des précurseurs du peptidoglycane au travers de la membrane cytoplasmique jusqu'au périplasme.
- ✓ Dans le périplasme, le bactoprénol réagit avec des enzymes pour additionner les précurseurs de la paroi au point de croissance et catalysent les réactions de formation des ponts glycosidiques (voir figure).
- ✓ La dernière étape de la synthèse de la paroi est appelée transpeptidation (= formation de liaisons peptidiques entre résidus d'acide muramique contenus dans des chaînes de glycane adjacentes).

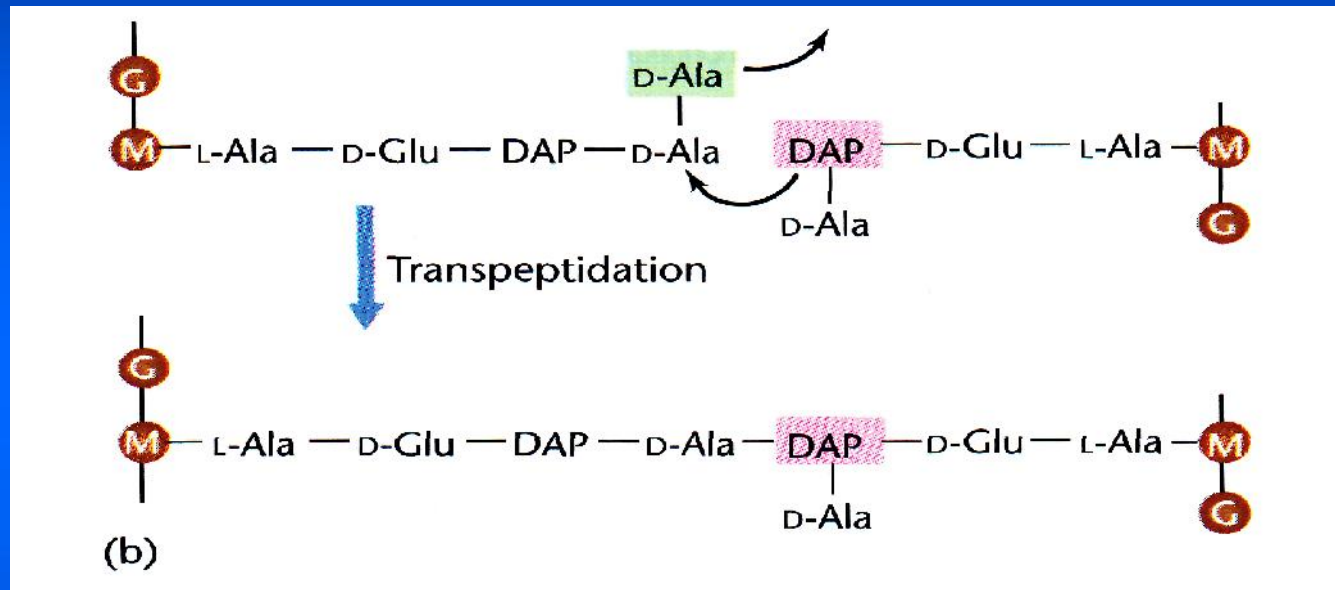


FIGURE 6.5 **Synthèse du peptidoglycane .**

(b) Réaction de transpeptidation aboutissant à la jonction de deux chaînes de peptidoglycane. La pénicilline inhibe cette réaction.

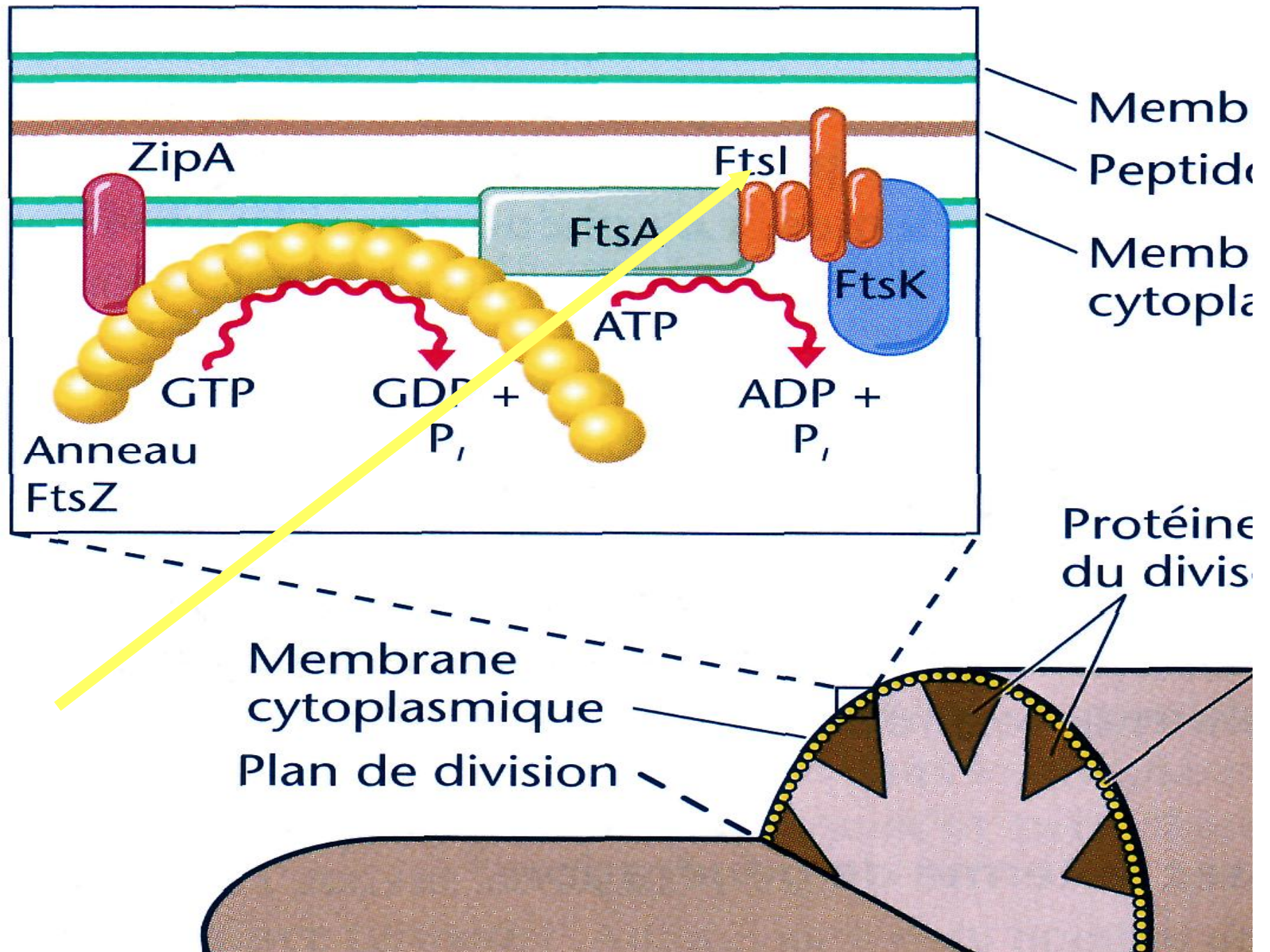
La transpeptidation : cible de la pénicilline

- ✓ La transpeptidation est inhibée par un antibiotique, la pénicilline.
- ✓ De nombreuses protéines se fixant à la pénicilline ont été identifiées dont la protéine FtsI (figure 2).
- ✓ Lorsque la pénicilline se fixe à ces protéines, elles ne présentent plus d'activité catalytique.
 - **Conséquence** : arrêt de synthèse de la nouvelle paroi, et l'activité des autolysines va affaiblir la paroi pour finalement aboutir à une lyse cellulaire.

3. La synthèse du peptidoglycane et la division cellulaire

La transpeptidation : cible de la pénicilline (suite)

- ✓ La pénicilline a été très utilisée en médecine pour deux raisons principales :
 1. en premier lieu, les humains, eucaryotes, n'ont pas de peptidoglycane, ce qui permet l'utilisation de cet antibiotique à forte dose;
 2. en second lieu, pratiquement toutes les bactéries pathogènes contiennent du peptidoglycane et présentent donc potentiellement des cibles pour la pénicilline.



Connaissance des populations microbiennes

La nutrition bactérienne

III. Mesure de la Croissance microbiennes

III.1.- Les mesures directs de la croissance microbienne : comptages des cellules totales et viables

- ✓ Voir TD :
 - ✓ 2 techniques
 - ✓ a.- Le comptage des cellules totales (microscope)
 - ✓ soit à partir d'échantillons séchés sur lame, soit d'échantillons liquides (*cellules de comptage*)

b. - Cytométrie de flux

- ⌘ permet de compter une à une des cellules en suspension dans un liquide, de les trier en fonction de leurs propriétés électriques, optiques et géométrique.
- ⌘ En pratique, dans un cytomètre de flux, des cellules circulent dans un flux liquide qui permet de les aligner les unes derrière les autres. Elles sont traversées une à une par un faisceau laser, permettant de ce fait la mesure simultanée de plusieurs paramètres :

b.- Cytométrie de flux

- ⌘ - l'intensité de la lumière diffusée **sous un** angle inférieur à 10° qui nous informe sur la **taille des cellules**;
- ⌘ - l'intensité de la **lumière diffusée à** angle droit nous renseigne sur la **forme des cellules**;
- ⌘ - la **fluorescence** émise naturellement ou artificiellement après **coloration** par les cellules (orangé acridine par exemple) ce qui permet dans ce dernier cas de **différencier les cellules vivantes et mortes** (épifluorescence).

IV. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE.

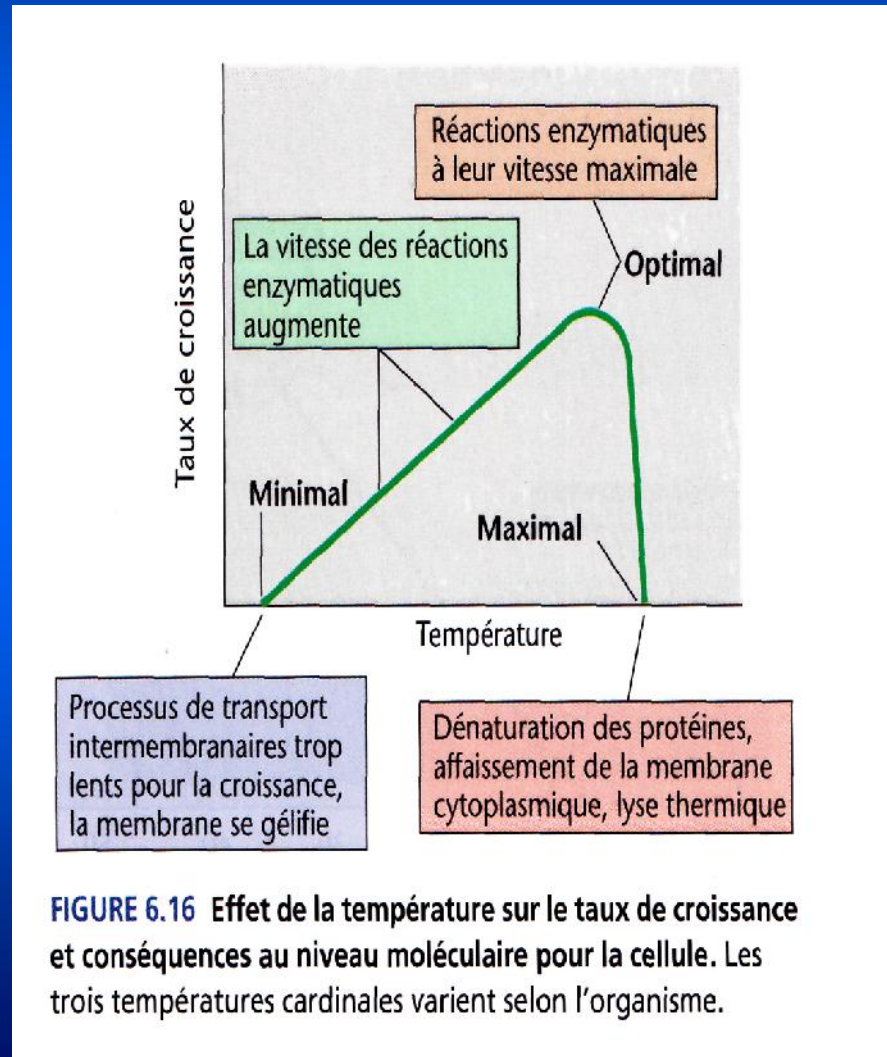
- ✓ Quatre facteurs : la *température*, le *pH*, *l'eau* et *l'oxygène*.
D'autres facteurs, tels que la pression ou les radiations, peuvent également influencer sur la croissance des micro-organismes.

Les températures cardinales (mini, optima, maxi.)

- ✓ Peuvent aller de 4°C à 100°C
- ✓ Pour chaque organisme, il existe une température *minimale* au-dessous de laquelle il n'y a pas de croissance, une température *optimale* où la croissance est la plus rapide, et une température *maximale* au-dessus de laquelle la croissance n'est plus possible (figure 16).

IV. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE LA TEMPÉRATURE

L'impact de la température sur la croissance



Le classement des organismes selon la température

- ✓ Quatre grands groupes de micro-organismes:
 - les psychrophiles (température optimale basse (4°C)),
 - les mésophiles (température optimale moyenne (39°C)),
 - les thermophiles (température optimale élevée (60°C))
 - et les hyperthermophiles (température optimale très élevée (88°C voire 106°C) [figure 17].
- ✓ Les mésophiles se retrouvent chez les animaux à sang chaud ainsi que dans les environnements terrestres ou aquatiques des latitudes tempérées à tropicales.

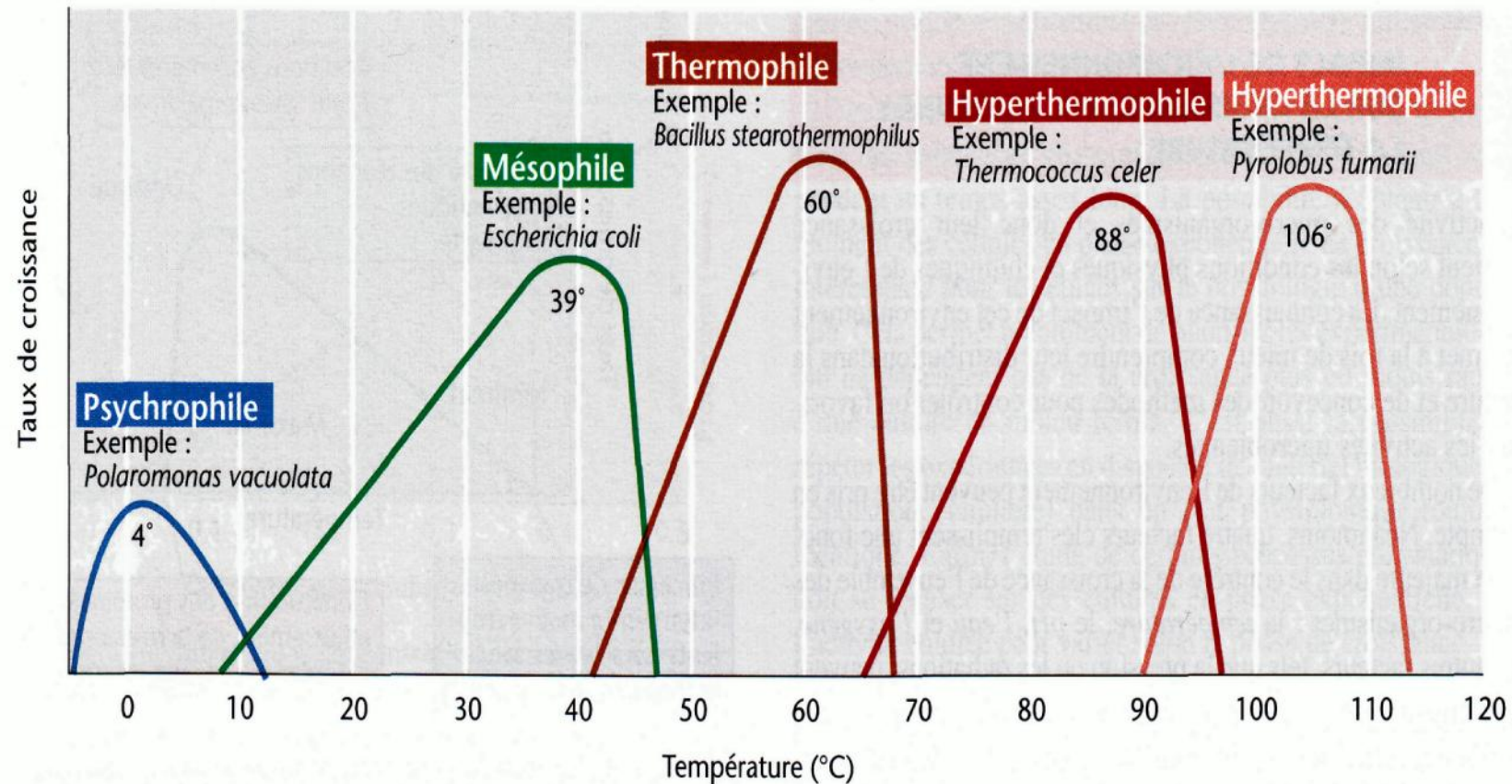


FIGURE 6.17 Relation vis-à-vis de la température d'organismes psychrophiles, mésophiles, thermophiles et de différents hyperthermophiles. Les températures optimales des différents organismes cités en exemple sont indiquées sur les courbes. Les hyperthermophiles ont des températures optimales supérieures à 80 °C.

IV. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE LA TEMPÉRATURE

IV.1- L'impact de la température sur la croissance

Le classement des organismes selon la température

- ✓ Les psychrophiles et les thermophiles colonisent des environnements exceptionnellement froids ou chauds selon le cas.
- ✓ Les hyperthermophiles se retrouvent dans des environnements extrêmement chauds tels que les sources géothermales, les geysers ou au niveau des sources hydrothermales océaniques profondes.
- ✓ *Escherichia coli*, organisme mésophile. L'optimum de température est 39 °C, la température maximale est de 48 °C et la minimale de 8 °C.

Les micro-organismes psychrophiles et psychrotolérants

- ✓ Un organisme **psychrophile** présente une température *optimale* de 15 °C ou *moins*, une température maximale inférieure à 20 °C et une température minimale de 0 °C ou moins.
- ✓ Un organisme pouvant se développer à une température de 0 °C mais dont l'optimale se situe entre 20 °C et 40 °C est appelé **psychrotolérant**.

La congélation

- ✓ Le gel empêche la croissance microbienne mais ne provoque pas forcément la mort.
- ✓ De fait, l'utilisation de ces produits appelés *cryoprotecteurs* (glycérol), constitue un mode de *préservation* des cultures microbiennes à très basse température (entre - 70 °C et - 196 °C).
- ✓ Des cellules de micro-organismes correctement congelées restent viables durant de très longues périodes (plusieurs dizaines d'années).

IV. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE LA TEMPÉRATURE

La croissance microbienne à haute température

Les environnements chauds

- ✓ Les **thermophiles** (température optimale de croissance *au-delà* de 45 °C) alors que les **hyperthermophiles** est *au-delà* de 80°C.
- ✓ Les produits sujets à fermentation tels qu'un tas de compost ou des produits d'ensilage peuvent atteindre des températures de 70 °C.

On peut en conclure que :

- 1) les organismes procaryotes sont capables de croissance à des températures plus élevées que les eucaryotes ;
- 2) les plus thermophiles parmi les procaryotes sont des Archaea ;
- 3) les organismes non phototrophes sont capables de croissance à des températures plus élevées que les phototrophes.

V.1 La croissance microbienne à pH acide ou alcalin

- ✓ L'échelle de pH est *logarithmique*; une variation d'une unité pH représente un changement d'un *facteur 10* de la concentration en ions H^+ . Ainsi, le vinaigre (pH proche de 2) est un milliard de fois plus concentré en ions H^+ que l'ammoniac domestique (pH proche de 11).

Le pH et la croissance

- ✓ Le pH des micro-organismes varie énormément: de 1 à 2 dans les sols et lacs acides jusqu'à 9 à 10 dans les sols et lacs alcalins.
- ✓ L'échelle de pH s'étend de 0 à 14. La plupart des $\mu.o$ ont des pH compris entre 5 et 9.

Le pH et la croissance

- ✓ Chaque espèce a une gamme de pH et possède un pH optimum de croissance :
 - - les acidophiles extrêmes qui ont un optimum de pH de croissance situé entre 0 et 2 (*Thiobacillus thiooxydans*);
 - - les acidophiles ont leur optimum de croissance situé entre 1 et 5,5 et peuvent se développer jusqu'à pH 9 (levures, moisissures, bactéries lactiques et acétiques).
 - Les neutrophiles entre 5,5 et 8 (majorité des bactéries surtout bactéries pathogènes et sporulantes).
 - les alcalophiles entre 8,5 et 11,5 voire supérieurs pour les alcalophiles extrêmes (*Bacillus pasteurii* et *Sporosarcina ureae*).

V. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE : pH, Pression osmotique et oxygène

La croissance microbienne à pH acide ou alcalin

Le pH et la croissance

Exemples :

- *E. coli* présente un optimum de croissance à 6,0 - 8,0 mais est encore capable de se développer à des pH entre 4,3 et 9,0.
- Moisissures et levures ont des gammes de pH de croissance extrêmement larges respectivement de 1,5 à 11 et de 1,5 à 8,5 et de plus sont capables de se développer dans des milieux dont l' a_w est faible. Ce qui explique qu'on puisse les retrouver comme microorganismes de contamination dans de nombreux aliments.

b. Le pH interne de la cellule

- ✓ proche de la neutralité pour éviter la destruction des macromolécules acido-ou alcali-sensibles.
- ✓ Pour la majorité des micro-organismes (neutrophiles), le pH cytoplasmique reste proche de la neutralité.
- ✓ En ce qui concerne les acidophiles et alcaliphiles, ce pH interne peut varier. Ainsi, chez *Picrophilus. oshimae*, le pH interne a été mesuré à 4,6 et, chez certains alcaliphiles extrêmes (Archaea), il peut atteindre 9,5.

c. Les tampons

- ✓ Pendant la croissance, le pH change. Des solutions *tampons* sont utilisées pour maintenir le pH stable au cours de la croissance. Plusieurs types de tampons sont utilisés.
- ✓ Pour des gammes de pH proches de la neutralité, le phosphate de potassium est utilisé comme tampon (K_2HPO_4 , KH_2PO_4).

V.2- L'influence de la pression osmotique sur la croissance

a. L'activité de l'eau et l'osmose

- ✓ La disponibilité de l'eau qui est l'activité de l'eau notée a_w varient entre 0 et 1 (voir tableau 2).
- ✓ L'eau diffuse depuis les zones à forte concentration en eau (faible concentration en éléments dissous) vers les zones à faible concentration en eau (forte concentration en éléments dissous) ; c'est le processus appelé *osmose* .
- ✓ L'eau a donc tendance à diffuser vers l'intérieur de la cellule qui présente une *balance positive pour l'eau*.

TABLEAU 6.2**MESURES DE L'ACTIVITÉ DE L'EAU
(a_w) DE CERTAINS PRODUITS**

Activité de l'eau	Produits	Exemples d'organismes ^a
1,000	Eau pure	<i>Caulobacter</i> , <i>Spirillum</i>
0,995	Sang humain	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia</i>
0,980	Eau de mer	<i>Pseudomonas</i> , <i>Vibrio</i>
0,950	Pain	La plupart des bacilles Gram positif
0,900	Sirop d'érable, jambon	Coques Gram positif tels que <i>Staphylococcus</i>
0,850	Salami	<i>Saccharomyces rouxii</i> (levure)
0,800	Gâteau aux fruits, confiture	<i>Saccharomyces bailii</i> , <i>Penicillium</i> (champignon)
0,750	Lacs salés, poisson salé	<i>Halobacterium</i> , <i>Halococcus</i>
0,700	Céréales, sucre, fruits secs	<i>Xeromyces bisporus</i> et autres champignons xérophiles

^a Exemples d'organismes procaryotes ou de champignons capables de croissance dans un milieu de culture dont l'activité de l'eau est ajustée à la valeur indiquée.

Selon ce pouvoir d'osmorégulation, on distingue 4 groupes de bactéries

Groupe	Exemple	[NaCl] tolérée
Non Halophiles	<i>E. coli</i>	0 à 4 %
Halophiles	<i>Pseudomonas marina</i>	0,2 à 5 %
Halophiles modérés	<i>Pediococcus halophilus</i>	2,3 à 20,5 %
Halophiles extrêmes	<i>Halobacterium</i>	5 à 36 %

Halotolérant : *Staphylococcus aureus*

V.3. L'influence de l'oxygène sur la croissance

- ✓ La vie nécessite la présence d'oxygène moléculaire (O_2); mais, de nombreux $\mu.o.$ peuvent vivre sans, ou doivent vivre en absence d'oxygène.
- ✓ Les besoins ou tolérance vis-à-vis de l'oxygène varient selon les micro-organismes. Ce qui classe les $\mu.o.$ dans plusieurs groupes (tableau 4).

TABLEAU 6.4

RELATION DES MICRO-ORGANISMES AVEC L'OXYGÈNE

Groupe	Relation à l'O ₂	Type de métabolisme	Exemple ^a	Habitat ^b
Aérobies				
Stricts	Nécessaire	Respiration aérobie	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Peau, poussière
Facultatifs	Non nécessaire mais croissance améliorée	Respiration aérobie ou anaérobie, fermentation	<i>Escherichia coli</i> (B)	Gros intestin des mammifères
Microaérophiles	Nécessaire à concentration inférieure à l'O ₂ atmosphérique	Respiration aérobie	<i>Spirillum volutans</i> (B)	Lac (eau)
Anaérobies				
Aérotolerants	Non nécessaire et croissance non améliorée	Fermentation	<i>Streptococcus pyogenes</i> (B)	Tractus respiratoire supérieur
Stricts	Toxique, létale	Fermentation ou respiration anaérobie	<i>Methanobacterium formicicum</i> (A)	Station d'épuration des eaux usées, sédiments anoxiques

^a Les lettres entre parenthèses indiquent le type d'organisme (B, *Bacteria* ; A, *Archaea*). Des représentants de chacun des domaines des prokaryotes sont connus dans chaque catégorie. La plupart des *Eukarya* sont des aérobies stricts, mais certains anaérobies facultatifs (levures par exemple) ou stricts (certains protozoaires et champignons) sont connus.

^b Les habitats typiques des organismes cités sont listés.

V. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE : pH, Pression osmotique et oxygène

L'influence de l'oxygène sur la croissance

La classification des micro-organismes vis-à-vis de l'oxygène

- ✓ Les **aérobies** (l'air contient 21 % d'O₂) et ils respirent l'oxygène au cours de leur métabolisme.
- ✓ De nombreux aérobies sont **facultatifs** c'est-à-dire que, selon les conditions du milieu (nutriments notamment), ils pourront se développer en conditions **oxiques** ou **anoxiques**.
- ✓ Les **microaérophiles** utilisent l'oxygène à des pressions partielles réduites (conditions *micro-oxiques*). Ceci est dû au fait que leurs capacités de respiration sont limitées ou bien qu'ils contiennent des molécules sensibles à l'oxygène telles que certaines enzymes.

TABLEAU 6.4

RELATION DES MICRO-ORGANISMES AVEC L'OXYGÈNE

Groupe	Relation à l'O ₂	Type de métabolisme	Exemple ^a	Habitat ^b
Aérobies				
Stricts	Nécessaire	Respiration aérobie	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Peau, poussière
Facultatifs	Non nécessaire mais croissance améliorée	Respiration aérobie ou anaérobie, fermentation	<i>Escherichia coli</i> (B)	Gros intestin des mammifères
Microaérophiles	Nécessaire à concentration inférieure à l'O ₂ atmosphérique	Respiration aérobie	<i>Spirillum volutans</i> (B)	Lac (eau)
Anaérobies				
Aérotolerants	Non nécessaire et croissance non améliorée	Fermentation	<i>Streptococcus pyogenes</i> (B)	Tractus respiratoire supérieur
Stricts	Toxique, létale	Fermentation ou respiration anaérobie	<i>Methanobacterium formicicum</i> (A)	Station d'épuration des eaux usées, sédiments anoxiques

^a Les lettres entre parenthèses indiquent le type d'organisme (B, *Bacteria* ; A, *Archaea*). Des représentants de chacun des domaines des prokaryotes sont connus dans chaque catégorie. La plupart des *Eukarya* sont des aérobies stricts, mais certains anaérobies facultatifs (levures par exemple) ou stricts (certains protozoaires et champignons) sont connus.

^b Les habitats typiques des organismes cités sont listés.

V. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE : pH, Pression osmotique et oxygène

L'influence de l'oxygène sur la croissance

La classification des micro-organismes vis-à-vis de l'oxygène (suite)

- ✓ **Anaérobies** ne peuvent pas utiliser l'oxygène. Il y a des anaérobies aérotolérants, qui tolèrent la présence d'oxygène même s'ils ne peuvent pas l'utiliser, et les anaérobies stricts, qui sont inhibés ou tués en présence d'oxygène (tableau 4). Les raisons pour lesquelles les anaérobies stricts sont ainsi détruits pourraient être qu'ils ne peuvent éliminer certains produits toxiques issus du métabolisme de l'oxygène.

V. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE : pH, Pression osmotique et oxygène

L'influence de l'oxygène sur la croissance

La classification des micro-organismes vis-à-vis de l'oxygène (suite)

- ✓ Le genre le + connu est *Clostridium* : bacilles anaérobies Gram positif formant des endospores, largement répandus dans les sols, les sédiments et les tractus intestinaux, et responsables de la détérioration de produits alimentaires en conserve.

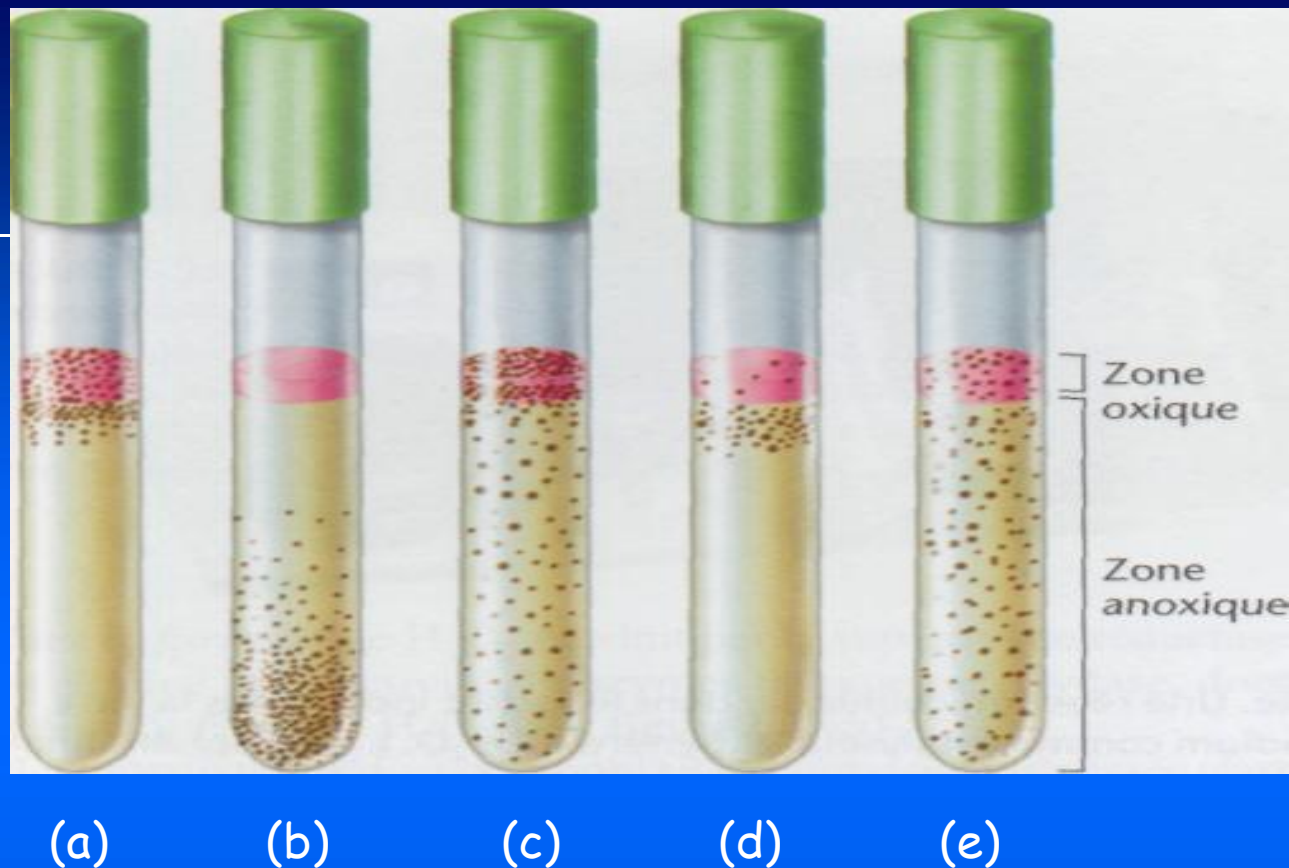


FIGURE 13 Croissance en fonction de la concentration en oxygène. Localisation des colonies révélant la croissance d'organismes aérobies stricts, anaérobies, anaérobies facultatifs, microaérophiles et anaérobies aérotolestants. Du fait de la faible pénétration de l'oxygène dans le tube, (a) **les aérobies stricts** ne se développent qu'en surface, (b) **Les anaérobies**, sensibles à l'oxygène, ne se développent qu'en profondeur, (c) **Les anaérobies facultatifs**, pouvant se développer en présence ou en absence d'oxygène, se répartissent dans l'ensemble du tube ; néanmoins la croissance est meilleure en surface, où ces organismes effectuent une respiration aérobie, (d) **Les microaérophiles** se développent mieux dans des zones où la concentration en oxygène est faible mais non nulle, (e) **Les anaérobies aérotolestants** se développent dans l'ensemble du tube ; néanmoins leur croissance n'est pas meilleure en surface, car ils sont seulement capables de fermentation.

V. IMPACT DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE : pH, Pression osmotique et oxygène
L'influence de l'oxygène sur la croissance

Les techniques de culture pour les aérobies et les anaérobies

- ✓ Afin d'éliminer toute trace d'oxygène, on incube les tubes ou les boîtes dans une jarre à paroi épaisse (*jarre anaérobie*), fermée hermétiquement par un couvercle étanche aux gaz et contenant un système qui va consommer l'oxygène (figure suivante). L'air dans la jarre est remplacé par un mélange de H_2 et CO_2 , et en présence d'un catalyseur les traces d'oxygène seront consommées par l'hydrogène ($H_2 + O_2 \rightarrow H_2O$), ce qui aboutira à l'**anoxie**.



Deborah O. Jung et Michael T. Madigan

(a)



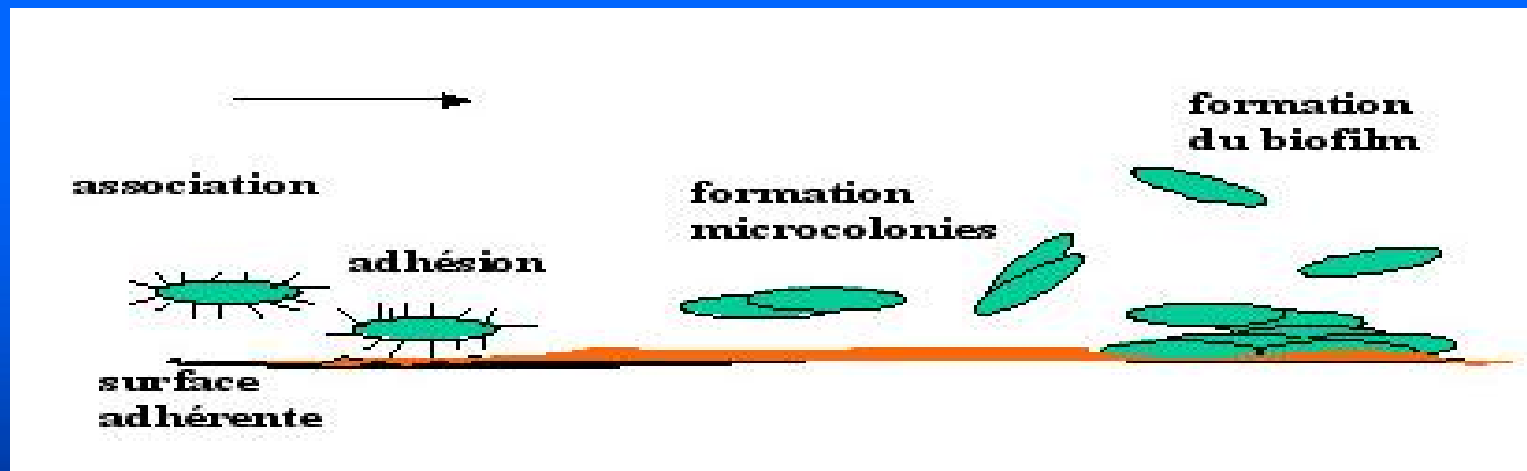
Coy Laboratory Products

(b)

FIGURE 6.26 Incubation en conditions anoxiques. (a) Jarre anaérobie. Une réaction chimique, dans le sachet inclus dans la jarre, génère $H_2 + CO_2$; le H_2 produit réagit avec le O_2 en présence de palladium comme catalyseur et génère du H_2O . L'atmosphère finale contient du H_2 , du N_2 et du CO_2 . (b) Enceinte anaérobie (boîte à gants) pour la manipulation et l'incubation en conditions anoxiques. Le sas sur la droite peut être purgé avec du gaz sans oxygène et sert à l'introduction et au retrait de matériel de l'enceinte.

III.4. Croissance en biofilm

- Les bactéries peuvent s'attacher aux surfaces, s'associer entre elles et s'entourer d'un polymère organique pour constituer un biofilm.



III.4. Croissance en biofilm

- ✚ Leur organisation et leur métabolisme dépendent de la nature de la surface et de l'environnement physico-chimique.
- ✚ Les biofilms se forment sur tout support : (matériels d'exploration, matériels implantés, muqueuses lésées).
- ✚ Ils sont caractérisés par une hétérogénéité spatiale à cause des variations métaboliques importantes à l'intérieur du biofilm et à l'interface milieu liquide/milieu solide.

Fin du chapitre

📌 Fin du chapitre

DEUST BCG

Module B245

MICROBIOLOGIE

Cours de Génétique Bactérienne

E-Cours | Android App

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

1. INTRODUCTION

- La génétique microbienne c'est l'étude du génome microbien (=gènes), sa variation génotypique et son expression phénotypique.
- Variations génotypique concernent les mutations et les recombinaisons génétiques.

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

2. LES MUTATIONS

- Mutation = modification brusque et stable. Survient au hasard au niveau de la séquence nucléotidique du gène. Elle se traduit par apparition d'un caractère nouveau et transmissible à la descendance.
- Les mutations peuvent survenir spontanément ou être provoquées.
- Les mutations spontanées correspondent à 1 événement rare dans une population bactérienne avec une fréquence de 10^{-7} à 10^{-8} .

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

2. LES MUTATIONS

- a. Types de mutations

On distingue 2 grands types de mutations :

- **Mutations ponctuelles** n'affectent qu'un nucléotide: une base azotée remplacée une autre.
- Mutations causées par un **décalage lecture** : survient par suite ou par perte d'1 ou plusieurs nucléotides concernant l'un ou l'autre mutation message codé.

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

2. LES MUTATIONS

- **b. Mutagènes**

= agents physiques (rayons UV, X et γ) ou chimiques (bromo-uracile, colorants acridines) qui augmentent la fréquence des mutations ($3 \cdot 10^{-4}$).

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

2. LES MUTATIONS

- c. Mutants = bactéries subissent des modifications génétique. On distingue différents types mutants.
- Mutants morphologiques : mutations au niveau morphologique, ex : flagelles, paroi, fimbriae, cils ou dimension cellulaire .
 - # mutations importantes = affectant colonies bactériennes, résultent d'1 modification de la composition capsulaire.
 - # mutations signalées sous nom différents S (smooth), R (rough), M (muqueux) I(intermédiaire).
- Ex: - Pneumocoque capsulé S virulent
- -1 mutant pneumocoque non capsulé type R perd sa virulence.

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

2. LES MUTATIONS

- c. Mutants
- **Mutants nutritionnels** = mutants chez lesquels apparaît ou disparaît 1 besoin nutritionnel ou acquiert ou perdent 1 caractère biochimique (fermentation d'1 sucre, dégradation d'1 a. aminé).
- **Mutants résistants aux agents antibiotiques**
- Un antibiotique actif sur les bactéries si :
 - . peut pénétrer dans la cellule,
 - . accède au site récepteur spécifique son action
 - . n'est pas altéré.
- Résistance : quand mutation de l'un de ces 3 facteurs.

- **3. LES RECOMBINAISONS**
- Eucaryote : 2 cellules sexuelles haploïdes (gamètes) fusionnent et forment une diploïde (zygote).
- Ps: se multiplie par division binaire, phénomène très rare et peut s'observer dans certaines conditions : 1 partie ou totalité ADN d'une bactérie donneuse transférée à 1 autre bactérie réceptrice. Modes transfert gènes sont : transformation, conjugaison ou transduction.

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

- 3. LES RECOMBINAISONS

- **a. Transformation**

- = échange génétique entre bactérie sans qu'il y ait contact.
- Apport de nouveau matériel génétique repose sur l'intégration, dans 1 bactérie vivante, d'1 fragment d'ADN provenant d' 1 bactérie morte.
- Processus rencontré que chez des bactéries compétentes: c.à.d . génétiquement compatibles.
- Ex:
 - *Streptococcus pneumoniae*
 - *Bacillus subtilis*
 - *Escherichia coli*

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

- 3. LES RECOMBINAISONS

- **b. Conjugaison** = seul processus d'échange génétique nécessitant un contact entre bactéries.
- Apport de nouveau matériel génétique après fusion temporaire entre une bactérie donneuse et une bactérie receveuse.
- Echange unidirectionnel et repose sur le Transfert d' 1 plasmide ou fragment de chromosome.
- Ex:
 - *Salmonella typhi*
 - *Escherichia coli*
 - *Vibrio cholerae*

NOTIONS DE GENETIQUE BACTERIENNE

- 3. LES RECOMBINAISONS

- **c. Transduction** = mode d'échange génétique réalisé sans contact direct.
- Transfert d'un matériel génétique d'une bactérie à autre indirectement à l'aide virus bactériophage
- Ex:
 - *Salmonella typhi* et le bactériophage P22.
 - *Escherichia coli* et le bactériophage λ .

DEUST BCG MICROBIOLOGIE

Module B245

Cours de Virologie

E-Cours | Android App

1. Caractères généraux des virus

- Un virus peut se définir par les propriétés suivantes :
 - - Un virus est une entité non cellulaire (particule);
 - - Il ne contient qu'un seul type d'acide nucléique : ADN ou ARN;
 - - Il ne peut se répliquer qu'à l'intérieur d'une cellule vivante; utilise la machinerie de la cellule hôte (ribosomes, enzymes, ...) pour se répliquer et former des unités infectieuses nommées virions.
 - - C'est donc un parasite intracellulaire absolu.
- Un virus est à la frontière du vivant (discussions ouvertes pour affirmer qu'un virus est vivant ou non...).

1. Caractères généraux des virus : **Le Virion**

- Le virion est la particule virale infectieuse complète.
- Il est constitué au minimum d'un acide nucléique, associé à des enzymes virales et entouré d'une coque protéique nommée capside.
- Il existe des virus
 - - **des animaux** : la cellule hôte est une cellule animale;
 - - **des végétaux** : la cellule hôte est une cellule végétale,
 - - **des bactéries** : la cellule hôte est une bactérie. Sont nommés bactériophages (ou phages).

2. Structure des bactériophages de type T

- Les phages les plus connus sont les urophages (phages à queue), et parmi eux les phages de la série T.
- Les phages T sont spécifiques des entérobactéries.
- Les phages T pairs (T₂, T₄, T₆) sont spécifiques d'E. Coli.

- La tête du phage, apparemment sphérique, est constituée de protéines de structure assemblée géométriquement sous la forme d'un polyèdre (symétrie dite cubique). Elle contient l'acide nucléique (Fig 1).

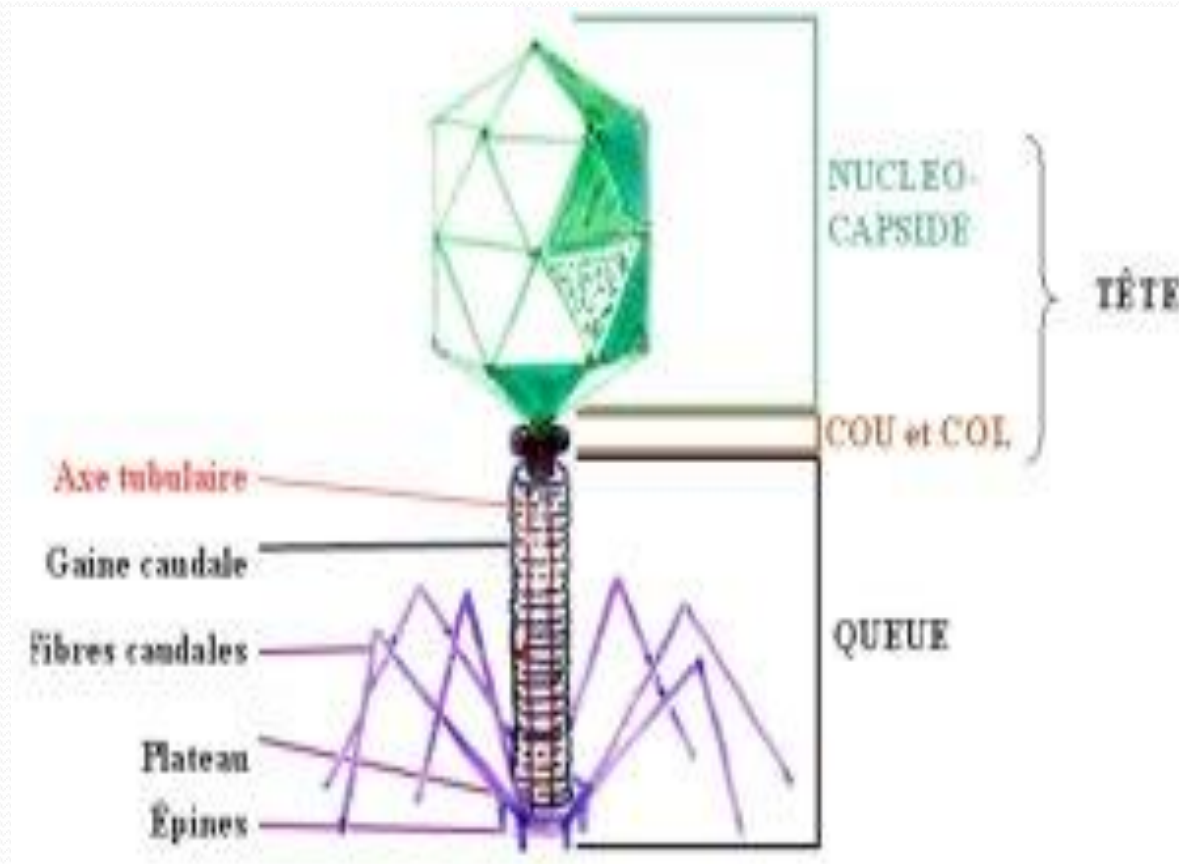


Figure 1 : Fig 1 : schéma de la structure d'un phage T2
Nucléocapside d'un phage T pair

La queue du phage est constituée de protéines contractiles assemblées en hélice (symétrie dite hélicoïdale). Ce manchon protéique est creux et se termine par une plaque basale hexagonale portant des structures d'ancrage :

- - des fibres articulées, (fibres caudales) à l'origine de l'adsorption spécifique sur la bactérie
 - - des spicules (crochets), plus courtes que les fibres.
-
- L'acide nucléique est modifié: les cytosines C sont remplacées par de l'hydroxyméthylcytosine glycosylée (HMCg) (Fig 1).
 - Conclusion : virus à symétrie mixte.

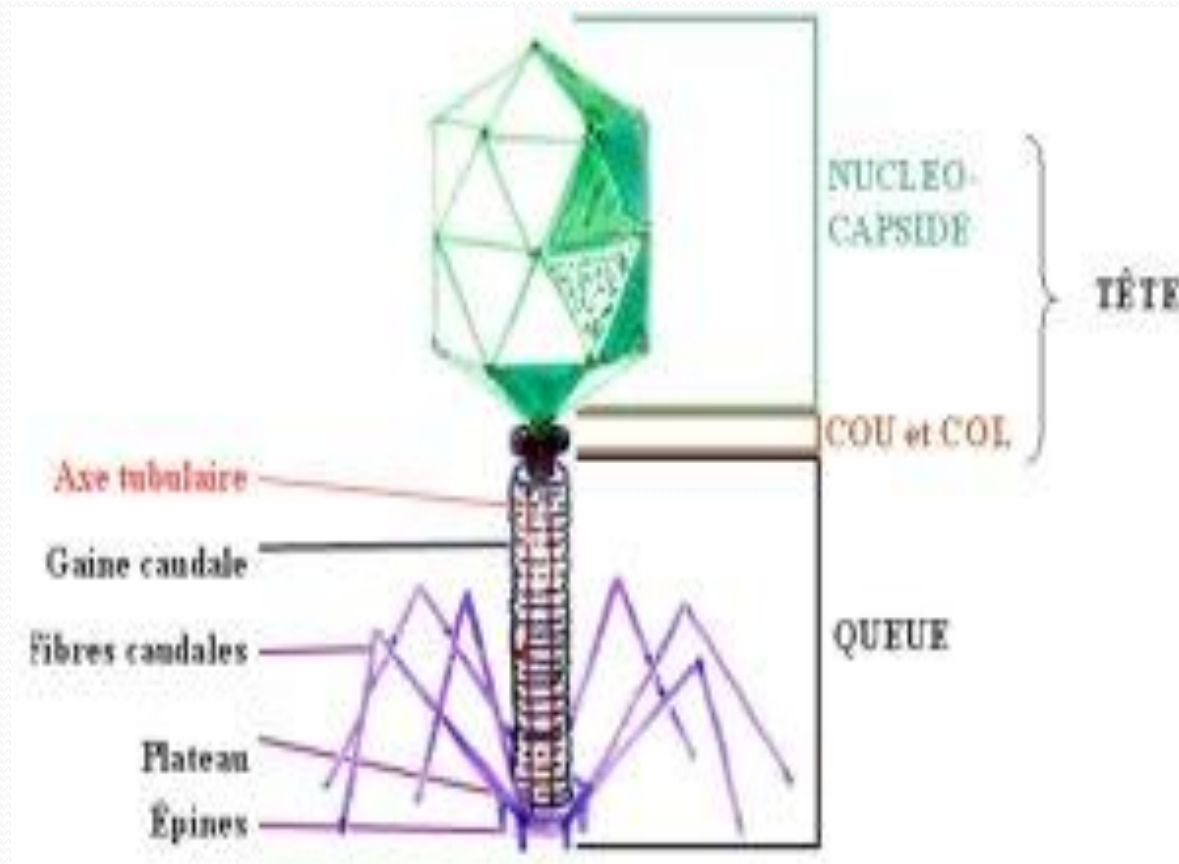


Figure 1 : Fig 1 : schéma de la structure d'un phage T2
Nucléocapside d'un phage T pair

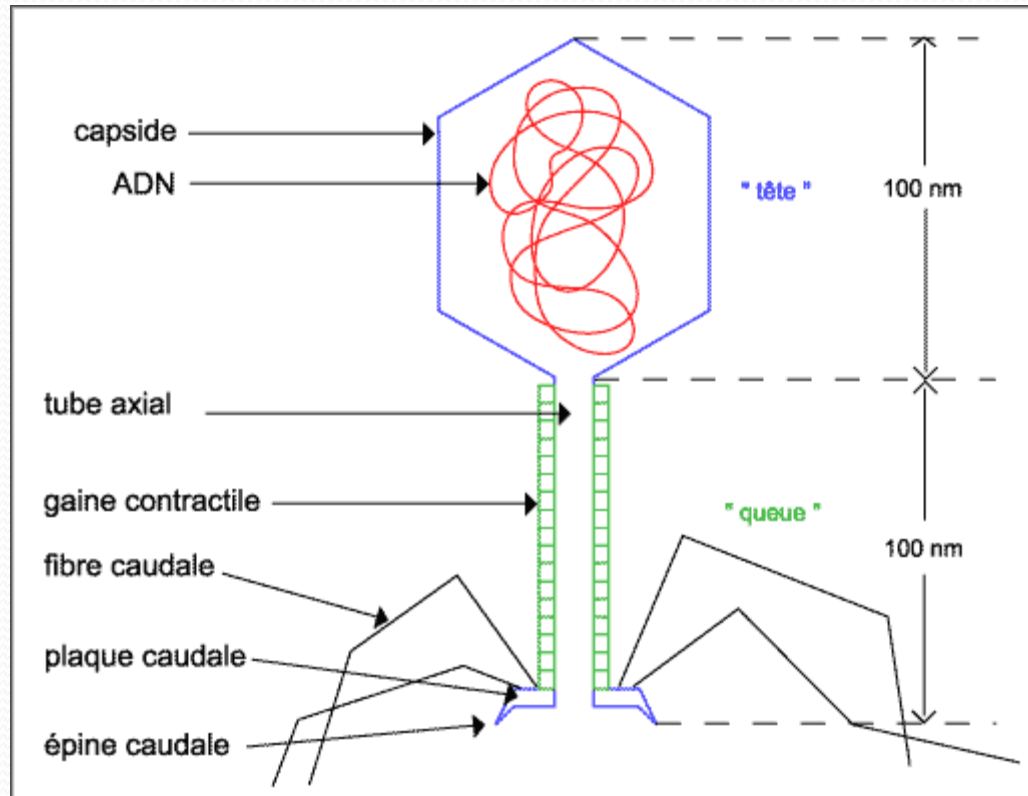


Figure 2 : Représentation schématique d'un virion de phage de la série

3. Multiplication des bactériophages : le cycle lytique du phage T2 (doc 2 et 3)

- On ne verra que le cycle dit lytique: cycle de reproduction des phages induisant la lyse de la bactérie avec libération d'un grand nombre de particules virales.
- C'est le cas des phages T2 : phages virulents présentant un cycle lytique. Durée environ 25 minutes.

3. Multiplication des bactériophages : le cycle lytique du phage T2 (doc 2 et 3)

- **1. Phase d'adsorption**
- C'est la fixation du phage sur des récepteurs spécifiques de la bactérie sensible. Ici, LPS de la membrane externe.
- - Étape passive (pas d'énergie)
- - La fixation est stabilisée par les fibres et les spicules.
- Remarque : d'autres phages utilisent d'autres structures : acides techoïques, pilis sexuels, flagelles, porine de la membrane externe.

3. Multiplication des bactériophages : le cycle lytique du phage T2 (doc 2 et 3)

- **2. Phase de pénétration**
- Seul l'acide nucléique pénètre dans la bactérie.
- Il est injecté par contraction des protéines du manchon (queue), ces protéines ont une activité ATPasique.
- La paroi bactérienne (peptidoglycane) est localement hydrolysée par les enzymes de type endoglycosidases des fibres.
- Étape influencée par la température, et nécessitant de l'énergie.

Adsorption
irréversible

Contraction de la gaine caudale
Perforation

Injection de
l'acide nucléique

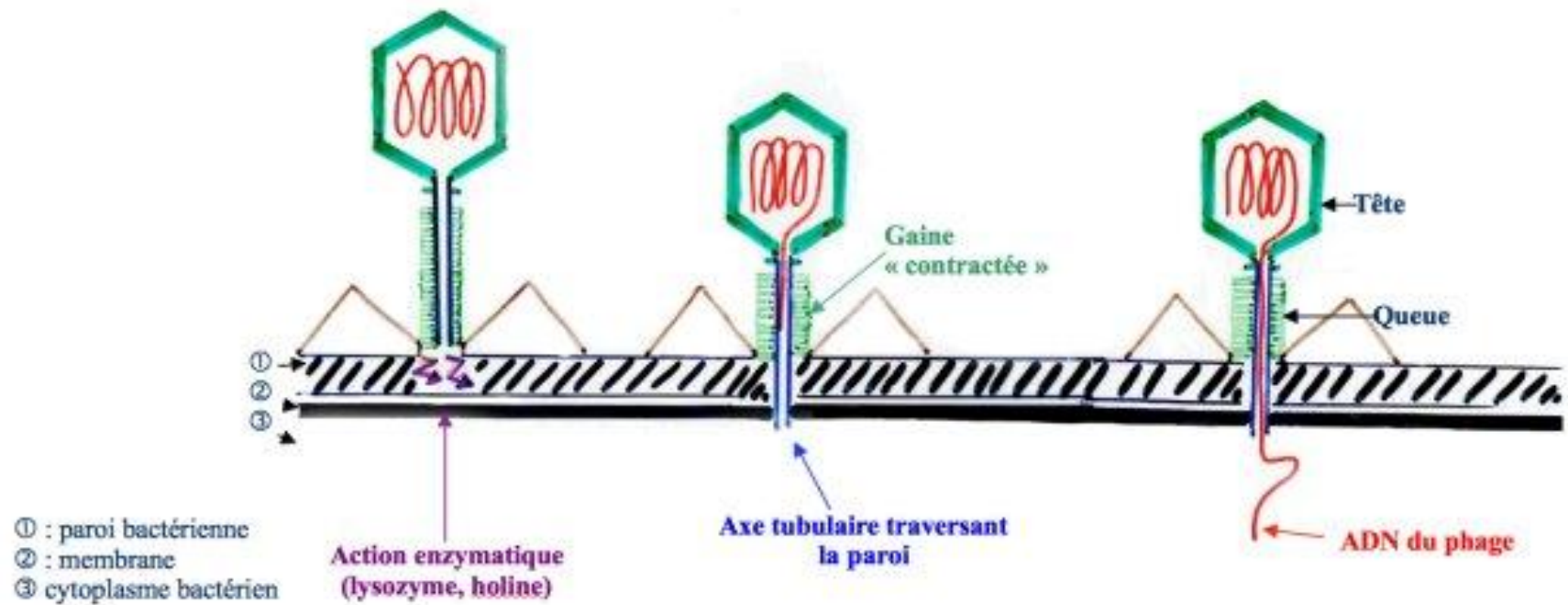


Figure 3 : Pénétration de l'ADN chez les phages T pairs

- **3. Phase d'éclipse ou de synthèse des constituants du virion**
- Ainsi nommée car « rien ne se passe » en dehors de la cellule infectée. Phase « précoce » : pendant les premières minutes qui suivent la pénétration de l'ADN viral. Phase qui précède la réplication de génome phagique et où sont produites des enzymes virales nécessaires à la réplication.
- - Rapidement, arrêt du métabolisme bactérien détourné au profit du virus. L'ARN polymérase de la bactérie transcrit certains gènes viraux (gènes précoces) qui seront traduits en protéines. Une de ces protéines virale précoce est une nucléase, à l'origine de l'hydrolyse de l'ADN bactérien.

3. Multiplication des bactériophages : le cycle lytique du phage T2 (doc 2 et 3)

- 3. Phase d'éclipse ou de synthèse des constituants du virion
- Pourquoi l'ADN phagique n'est pas aussi détruit ?
- L'ADN du phage T2 est différent de celui de la bactérie (HMC glycosylé). La présence d'HMC protège l'ADN phagique de l'action de la nucléase virale. D'autres enzymes virales précoces permettront la réplication de l'ADN phagique et la production d'un grand nombre de copies (6 minutes).
- Phase « tardive » (9 min) correspond à la production des protéines de structure (protéines de tête ou de queue, fibres) ou d'assemblage des virions.

3. Multiplication des bactériophages : le cycle lytique du phage T2 (doc 2 et 3)

- **4. Phase d'assemblage des virions**

-
- Ou phase de maturation.
- Encapsidation de PADN dans les têtes, morphogenèse des virions.
-

- **5. Phase de libération**

-
- (25 min)
- Par éclatement de la bactérie sous l'effet de l'accumulation d'enzymes virales (endolysines).
- Une bactérie libère 100 à 200 virions : chacun peut réinfecter une bactérie --> amplification rapide.